

# III Congresso Ibérico de Apicultura



13-15 Abril 2014  
Mirandela - Portugal

Livro de resumos



**ipb**

INSTITUTO POLITÉCNICO DE BRAGANÇA  
Escola Superior Agrária

# III Congresso Ibérico de Apicultura



13-15 Abril 2014  
Mirandela - Portugal

Livro de resumos

**Título:** III Congresso Ibérico de Apicultura  
**Editores:** Miguel Vilas-Boas, Luís Guimarães Dias, Luís Miguel Moreira  
**Fotografia:** Luís Miguel Moreira (Associação de Apicultores do Parque Natural de Montesinho)  
**Publicado por:** Instituto Politécnico de Bragança  
**Impressor:** Midoel – Publicidade & Gráfica Lda – Macedo de Cavaleiros  
**Número de cópias:** 150  
**Design:** Serviços de Imagem do Instituto Politécnico de Bragança  
**Data:** Abril 2014  
**Depósito legal:** 373940/14  
**ISBN:** 978-972-745-165-4  
**Tópicos:** As ameaças à sanidade das colónias – dos pesticidas às doenças, parasitas e predadores  
A genética e o melhoramento como ferramentas para uma melhor gestão e conservação da abelha ibérica  
Qualidade e inovação como fatores de promoção e diversificação das produções apícolas  
Novas ferramentas para uma apicultura cada vez mais competitiva

---

## Organização



**INSTITUTO POLITÉCNICO DE BRAGANÇA**  
Escola Superior Agrária



**Centro de Investigação de Montanha**

---

## Promotores



Federação Nacional  
dos Apicultores  
de Portugal

---

## Parceiros



**GOVERNO DE PORTUGAL**

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,  
DO MAR, DO AMBIENTE  
E DO ORDENAMENTO DO TERRITÓRIO



**UNIÃO EUROPEIA**

Fundo Europeu Agrícola  
de Desenvolvimento Rural  
*A Europa investe nas zonas rurais*



## **PORQUE NOS PREOCUPAMOS COM A SAÚDE DAS ABELHAS, AUMENTAMOS A NOSSA GAMA DE PRODUTOS PARA APICULTURA**

### CONTRA A VARROA

1 Produto para Apicultura  
em Modo Biológico e Tradicional

Substâncias activas:  
Timol, Óleo de Eucalipto, Cânfora e Levomentol

1 Produto para Apicultura  
em Modo Tradicional

Substância activa:  
Amitraz

### SUPLEMENTOS NUTRICIONAIS

**ApiGo** **ApiHerb** **Provita'Bee**

### CONTRA A VESPA VELUTINA (ASIÁTICA) E CRABRO

Armadilha para  
Vespa Velutina

**V**éto-pharma



**NÃO HESITE EM CONTACTAR-NOS.  
TEREMOS O MAIOR PRAZER EM RESPONDER ÀS SUAS QUESTÕES.**

**QALIAN**

Tel.: +351 21 843 68 50 • FAX: +351 21 840 32 17 • E-mail: [saudeanimal@qalian.pt](mailto:saudeanimal@qalian.pt)





 **ENOLAPI**

## **CANDIPOLLINE® GOLD**

### **LA NUEVA FORMA DE ALIMENTAR ABEJAS MEDIANTE POLEN DE ABEJA ESTERILIZADO CON RAYOS GAMMA**

- **CANDIPOLLINE GOLD** es un producto de polen de mil flores esterilizado que contiene proteínas y vitaminas específicas para las crías que se mezclan en una pasta de caramelo para alimentar y estimular la colonia de abejas.
- Muchos estudios demuestran que alimentar las abejas con polen, además de estimular el desarrollo de las crías, ayuda a las abejas a prevenir varias patologías.
- El contenido del polen de abeja hace que **CANDIPOLLINE GOLD** sea especialmente beneficioso para las abejas.
- **CANDIPOLLINE GOLD** puede ser utilizado como un caramelo normal. Haz un agujero en una de nuestras bolsas de plástico y déjalo dentro de la colmena.
- Se recomienda **CANDIPOLLINE GOLD** durante la estación de otoño con el fin de preparar la colonia para el descanso invernal y al principio de primavera para preparar la colonia a la siguiente estación. No obstante, **CANDIPOLLINE GOLD** puede ser usado durante todo el año.



[www.enolapi.it](http://www.enolapi.it)



# PROMOTOR L47<sup>®</sup>

**MANTÉM VIVO  
O ESPÍRITO DA COLMEIA**



SUPLEMENTO NUTRICIONAL (AMINOÁCIDOS+VITAMINAS)  
ACTUANDO COMO SUBSTITUTO LÍQUIDO DO PÓLEN



CALIER PORTUGAL, S.A.

Centro Empresarial Sintra-Estoril II | Rua Pé de Mouro - Edifício C | 2710-335 Sintra | Telef: 219248140 - Fax: 219248141 | calier@calier.pt

[WWW.CALIER.PT](http://WWW.CALIER.PT)



## ← API CULTURA AMITRAZ →



**Mel**  
Agrupamento  
de Produtores  
*Mel do Parque, Lda.*



# ***PEREIRA, SOUSA & FIGUEIREDO, LDA.***

FABRICANTE DE COLMEIAS  
E UTENSÍLIOS APÍCOLAS











### Câmara Municipal de Mirandela



Gostava que ficasse expresso nesta pequena mensagem a especial felicidade que, para todos os mirandelenses, representa a recepção em Mirandela do III Congresso Ibérico de Apicultura.

Realço a oportunidade que temos de revelar, a todos participantes que nos visitam, a singular beleza da cidade de Mirandela e da nossa região, a qualidade da nossa gastronomia e a calorosa hospitalidade dos nossos cidadãos.

Visitar Mirandela e a região de Trás-os-Montes é também uma oportunidade única de conhecer uma região que se caracteriza pela sua biodiversidade e pelo respeito pelas suas tradições, sabores e “saber fazer”.

Nesse contexto consideramos a apicultura uma fileira particularmente importante no contexto agrícola local, quer pela sua dimensão económica quer pela sua importância para a preservação da biodiversidade.

O debate sobre os desafios que a fileira apícola enfrenta começa na sua capacidade de inovação, investigação e numa nova orientação para o mercado.

O crescimento mundial do consumo de mel associado aos novos desafios estabelecidos pela nova PAC, representa uma oportunidade mas em simultâneo uma responsabilidade de todos os atores de fileira e das instituições públicas e privadas de suporte no estabelecimento e no respeito por metas concretas.

As zonas rurais de baixa densidade têm que assumir como prioritária a aposta em fileiras que contribuam para a sustentabilidade do meio rural e da exploração agrícola como elemento de fixação das suas populações, para a estabilização do rendimento económico do agricultor individualmente ou das suas organizações orientadas para a produção ou para o mercado e para a preservação da sua singularidade ambiental e nesse sentido a fileira apícola deve ser assumida como prioritária.

Não posso deixar ainda de salientar o papel do Instituto Politécnico de Bragança e da Cooperativa de Produtores de Mel da Terra Quente na organização deste evento em Mirandela e na região, demonstrando assim o alinhamento com esta estratégia.

Fica demonstrado o papel fundamental do ensino superior regional no desenvolvimento local e regional em parceria com os atores económicos locais em específico as organizações de produtores.

Desejo que o III Congresso Ibérico de Apicultura seja um momento de debate e discussão sobre esta essencial fileira mas também um momento de permuta e convívio aproveitando as excecionais condições que Mirandela tem para vos receber.

Bom trabalho.

*António Almor Branco  
Presidente da Câmara Municipal de Mirandela*

## Mensagem de boas-vindas

### Federação Nacional dos Apicultores de Portugal

Amigos,

É com enorme prazer que vos escrevo a apresentar o III Congresso Ibérico de Apicultura.

A bela e histórica cidade Transmontana de Mirandela acolhe este evento, no qual esperamos acolher apicultores, profissionais ou amadores, cientistas e investigadores, jornalistas e líderes de opinião, bem como todo o público em geral.

Durante este Congresso será partilhado o trabalho, a experiência e os pontos de vista dos principais peritos ibéricos em Apicultura, que darão a conhecer as suas mais recentes descobertas com impacto na actividade apícola.

A FNAP e a Comissão Organizadora apresenta um programa ambicioso e que procura reflectir os mais recentes desenvolvimentos na Apicultura Ibérica e mundial, procurando reforçar os laços de cooperação entre os investigadores, os operadores da fileira apícola, e o sector público de Portugal e Espanha, de forma a promover a Apicultura, e a reforçar a sua capacidade de contribuir para o desenvolvimento de ambos os países.

A Apicultura na Península Ibérica é um sector em crescimento, pese embora todas as dificuldades que sentem diariamente os apicultores de Portugal e Espanha. Em ambos os países o sector acolhe a chegada diária de novos apicultores, trazendo novas ideias e formas de fazer, e mostrando uma muito maior abertura à inovação, factor que atualmente é crucial para a sobrevivência das explorações apícolas num mercado globalizado, em que a concorrência nos chega de todas as partes do Mundo.

A todos desejo uma excelente estadia, e uma muito agradável jornada de trabalho.

Lisboa, 14 de Abril de 2014



*Manuel Gonçalves  
Presidente da Direcção da FNAP*

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Manuel Gonçalves', written in a cursive style.



### Cooperativa de Produtores de Mel da Terra Quente

Bem-vindos ao III Congresso Ibérico de Apicultura que este ano se realiza na cidade Jardim da Terra Quente Transmontana.

Congratulamo-nos que Mirandela tenha tido o privilégio de ter sido escolhida para acolher tão grandioso evento que será sem dúvida vector de saber científico e experiências enriquecedoras.

Queremos desde já saudar todos os apicultores, sem excepção, que quiseram estar presentes para este 3º encontro ibérico, agradecendo também aos palestrantes que nos irão brindar com os seus novos saberes, conhecimentos e boas práticas, os quais irão concerteza enriquecer todos os amantes desta nobre e “doce” actividade que cada vez mais consegue unir apicultores e despoletar novos interesses.

O Mel do Nordeste Transmontano sempre foi considerado como um dos melhores méis do País, sendo produzido pela abelha local pertencente à *Apis mellifera* (sp. Ibérica).

Os aspectos edafo-climáticos, a flora natural e as características físico-químicas do mel permitem propor a delimitação da zona de - Mel da Terra Quente Denominação de Origem Protegida (DOP).

O “mel da Terra Quente” tem tendência natural para cristalizar o que é garantia da sua pureza e qualidade, pelo que só poderá ser comercializado no estado fluído (pastoso) ou sólido (cristalizado).

A produção estimada de mel transmontano ronda as 650 toneladas/ano abrangendo cerca de 31.000 colmeias, predominando o mel de rosmaninho (*Lavandula stoechas*) embora tenhamos também produções de mel de amendoeira (*Prunus* sp), mel de castanheiro (*Castanea sativa*), mel de melada de carvalho, azinheira e sobreiro (*Quercus*), o que nos consciencializa que a Apicultura nesta zona é já um sector agro-pecuário de elevada importância na produção nacional e na economia regional.

A apicultura na Terra Quente, é actualmente uma actividade rentável e economicamente sustentável, desenvolvida por um crescente de jovens, constituindo-se como uma importante fonte de rendimento, principal ou complementar para inúmeras famílias. A renovação da fileira apícola é visível no esforço colocado pelos apicultores na modernização das suas explorações, apostando na qualidade e diversificação das produções (mel biológico, pólen, própolis, cera), o que permite adaptar o sector às crescentes exigências do mercado.

Para finalizar, agradecemos o comprometimento, dedicação e carinho dos membros das diversas comissões da organização deste congresso, felicitando este evento como mais uma prova do reconhecimento do grande potencial deste sector que é a apicultura.



*José Domingos Carneiro*  
*Presidente da Cooperativa de Produtores de Mel da Terra Quente*



© Luís Miguel Moreira

### Contatos

III Congresso Ibérico de Apicultura  
Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança  
Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança  
Portugal  
Telefone: +351 273303382  
Fax: +351 273325405  
Internet: [esa.ipb.pt/cia2014](http://esa.ipb.pt/cia2014)  
Email: [cia2014@ipb.pt](mailto:cia2014@ipb.pt)

### Comissão Científica

António Gómez Pajuelo, Consultores Apícolas, Castellón, Espanha  
Cristina Aguiar, Universidade do Minho, Braga, Portugal  
Maria Graça Campos, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal  
Maria Graça Miguel, Universidade do Algarve, Portugal  
Maria Pilar de la Rua, Universidade de Múrcia, Múrcia, Espanha  
Mariano Higes, Centro Apícola de Marchamalo, Guadalajara, Espanha  
Ofélia Anjos, Instituto Politécnico de Castelo Branco, Castelo Branco, Portugal  
Xésus Féas, Universidade de Santiago, Santiago de Compostela, Espanha

### Comissão Organizadora

Miguel Vilas-Boas (Coordenador), CIMO & IPB, Portugal  
Isabel C.F.R. Ferreira, CIMO & IPB, Portugal  
Jesus Llorente Martinez, Espanha  
José Luis Herguedas - Feira Apícola de Pastrana, Espanha  
José Sánchez Sánchez, CIALE & USAL, Espanha  
Luís Dias, CIMO & IPB, Portugal  
M. Alice Pinto, CIMO & IPB, Portugal  
M. Letícia Estevinho, CIMO & IPB, Portugal  
Ofélia Anjos, IPCB/ESA, Portugal

### Voluntários

Andreia Tomás  
Catarina Lopes  
Márcio Carochio  
Mélissa Lopes  
Sofia Lima  
Soraia Falcão

## Locais

A conferência terá lugar no Auditório Municipal - Mirandela.



## Acesso à Internet

Internet Wireless disponível no Auditório Municipal para os participantes da conferência.

## Transporte

A organização fornecerá transporte entre o hotel D. Dinis e o local da conferência. Verifique o horário do transporte na receção do hotel.

## Alimentos e Bebidas

A recepção de boas vindas será servida no museu da Biblioteca Municipal de Mirandela no dia 13 de Abril às 19:00.

Almoço na segunda-feira (14 de abril) e terça-feira (15 de abril) será servido no restaurante “O Pomar”, localizado na Avenida Francisco Sá Carneiro, Mirandela.

Os *coffee breaks* da manhã e tarde serão servidos nas proximidades do Auditório do Congresso.

## Evento social para acompanhantes

Terça-feira às 09h30. Visita guiada à cidade de Mirandela.

## Convite

A apicultura é vista pelos cidadãos como uma atividade importante não apenas pela sua vertente económica direta mas cada vez mais pelo serviço de polinização que as abelhas prestam, o qual é fundamental à sustentabilidade e preservação dos ecossistemas.

Se por um lado a elevada mortalidade de colónias que se verifica em diversas partes do globo é motivo de elevada preocupação, por outro lado veio contribuir para a perceção geral da importância das abelhas no planeta e deste modo chamar a atenção dos decisores para a definição de políticas que promovam e preservem as abelhas e a apicultura.

Na Europa do sul, e em particular na Península Ibérica, a apicultura foi desde sempre uma atividade agrícola com elevado impacto económico e social, sendo exercida atualmente por mais de 40 mil apicultores que gerem um número superior a 3 milhões de colónias.

A profissionalização da atividade e a sua globalização impõem novos desafios, desde o impacto na diversidade genética das populações, o surgir de novos inimigos (doenças, parasitas e predadores) que condicionam o estado sanitário das colónias, até às ameaças ambientais (por exemplo, alterações climáticas e pesticidas) com impacto na mortalidade e qualidade dos produtos apícolas.

A investigação é a ferramenta ideal para responder a todos estes desafios e para encontrar novas soluções que permitam melhorar as condições das abelhas e a competitividade do setor apícola.

Este III Congresso Ibérico de Apicultura é o fórum ideal para que os investigadores e técnicos Espanhóis e Portugueses possam apresentar e discutir as suas novas descobertas bem como desenvolver parcerias estratégicas com objetivos comuns, pensando também nos desafios que se avizinham no âmbito das políticas Europeias para o horizonte 2014-2020.

Assim, contamos com todos vós em Abril de 2014 em Mirandela, Portugal.





© Luís Miguel Moreira

## PROGRAMA

DOMINGO, 13 ABRIL 2014

14H00 -18H30      Registo dos participantes

14H30 -16H00      Workshop A - Produção e Industrialização de Pólen Apícola  
**António Pajuelo** - consultor apícola  
Workshop B - Práticas de Cosmética e Saponária Apícola  
**Maria José Baldersberger** - Agrupamento de Produtores Mel do Parque  
Workshop C - Análise Morfométrica de Abelhas  
**Tiago Francoy** - Universidade de São Paulo

16H00 -16H30      Coffee break

16H30 -18H30      Workshop A - Produção e Industrialização de Pólen Apícola  
**António Pajuelo** - consultor apícola  
Workshop B - Práticas de Cosmética e Saponária Apícola  
**Maria José Baldersberger** - Agrupamento de Produtores Mel do Parque  
Workshop C - Análise Morfométrica de Abelhas  
**Tiago Francoy** - Universidade de São Paulo

19H00                “Alheira de Honra”. Receção de Boas Vindas pela Câmara Municipal de  
Mirandela - Museu do Centro Cultural.  
Acompanhamento musical de piano por Maria Teresa Silva

## PROGRAMA

SEGUNDA-FEIRA, 14 ABRIL 2014

9H00 - 9H30	Cerimónia de Abertura com a presença do Secretário de Estado da Alimentação e da Investigação Agroalimentar
9H30 - 10H30	<b>Sessão Plenária</b> Las amenazas para la salud de las abejas: de los patógenos a los pesticidas <b>Mariano Higes Pascual</b> , Marchamalo, Espanha
10H30 - 10H50	A nosebose em Portugal <b>Paulo Russo</b> , Vila Real, Portugal
10H50 - 11H10	Incidencia del hongo patógeno <i>Ascosphaera apis</i> en colonias de abejas de la región de murcia <b>Laura Nicolás</b> , Murcia, Espanha
11H10 - 11H30	Coffee break
11H30 - 11H50	Api-Herb en el control orgánico de la Nosemosis tipo C ( <i>Nosema ceranae</i> , Microsporidia) <b>António Nanetti</b> , Bolonha, Itália
11H50 - 12H10	Evolución de la sanidad apícola en la macaronesia durante la última década <b>Irene Muñoz</b> , Murcia, Espanha
12H10 - 12H30	Potencialidade acaricida de óleos essenciais da flora aromática Portuguesa no controlo da <i>Varroa destructor</i> <b>Ana Lima</b> , Bragança, Portugal
12H30 - 12H50	Atualização sobre acaricidas à base de amitraz: A Formulação contribui para a segurança e a eficácia <b>Benoit Siefert</b> , Villebon sur Yvette, França
12H50 - 14H30	Almoço
14H30 - 15H30	<b>Sessão Plenária</b> Ordenamento apícola com recurso a metodologias SIG <b>Ofélia Anjos</b> , Castelo Branco, Portugal
15H30 - 15H50	Aplicación de redes neuronales en la determinación de origen botánico de miel a partir de sus propiedades físico-químicas <b>Carla Comesaña</b> , Vigo, Espanha
15H50 - 16H10	A morfometria geométrica como ferramenta para a conservação das abelhas <b>Tiago Francoy</b> , São Paulo, Brasil
16H10 - 16H30	Valoración de diferentes fuentes de azúcares utilizados en la alimentación artificial de las abejas ( <i>A. mellifera</i> ) <b>Víctor Olivares</b> , Aguascalientes, México
16H30 - 17H00	Sessão Posters
17H00 - 19H30	“Visita Cultural à Aldeia do Romeu, Museu, Lagar e provas de azeite”
20H30	Sessão de contos “Mapa do Voo das Histórias” <b>Sílvia Alves</b> , Chaves, Portugal
20H30	Jantar do Congresso Acompanhamento musical pelo <b>Quarteto de Cordas Esproarte</b>



## PROGRAMA

TERÇA-FEIRA, 15 ABRIL 2014

9H00 - 10H00	<b>Sessão Plenária</b> Uma visão sobre a última década de investigação no pólen <b>Maria Campos</b> , Coimbra, Portugal
10H00 - 10H20	Avaliação das atividades anti-inflamatória e anti-mutagénica de pólen apícola Português <b>Xésus Feas</b> , S. Tiago Compostela, Espanha
10H20 - 10H40	“Pão de abelha” do Nordeste Transmontano: caracterização química e nutricional <b>Andreia Tomás</b> , Bragança, Portugal
10H40 - 11H00	Origen Botánico y Contenido en proteína de mieles artesanales procedentes de colmenares de Galicia (NO de España) <b>Maria Pilar Sá-Otero</b> , Vigo, Espanha
11H00 - 11H20	Coffee break
11H20 - 11H40	Caracterización de mieles monoflorales de Portugal con potencial uso en quemaduras <b>Ruben Bonilla</b> , Bragança, Portugal
11H40 - 12H00	Influencia de la temperatura y tiempo de almacenamiento en la calidad de mieles monoflorales de Portugal <b>Diana Trujillo</b> , Popayán, Colombia
12H00 - 12H20	Utilização de células imobilizadas na produção de hidromel <b>Ana Pereira</b> , Bragança, Portugal
12H20 - 12H40	Análisis sensorial de mieles en la universidad de Salamanca <b>Jose Sánchez</b> , Salamanca, Espanha
12H40 - 13H00	Caraterísticas reológicas da água mel da região do Algarve <b>Ana Figueira</b> , Faro, Portugal
13H00 - 14H30	Almoço
14H30 - 14H50	A composição da própolis Portuguesa <b>Soraia Falcão</b> , Bragança, Portugal
14H50 - 15H10	Composição fenólica do própolis da região sul do Brasil. Avaliação da atividade antioxidante por técnicas espectroscópicas e eletroquímicas <b>Joana Coelho</b> , Bragança, Portugal
15H10 - 15H30	Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de própolis de diferentes localidades <b>Paula Vanessa</b> , Bragança, Portugal
15H30 - 15H50	Proximidade entre as doses citotóxicas de própolis para linhas celulares tumorais e não-tumorais <b>Ricardo Calhelha</b> , Bragança, Portugal
15H50 - 16H10	Coffee break

16H10 - 17H10	<b>Sessão Plenária</b> Estado de conservación de las poblaciones de abejas en España <b>Pilar de la Rua</b> , Murcia, Espanha
17H10 - 17H30	Introgressão materna da linhagem c nas populações de abelha melífera dos arquipélagos da Madeira e Açores <b>Dora Henriques</b> , Bragança, Portugal
17H30 - 17H50	Identificando genes que favorecen la adaptación local en <i>Apis mellifera iberiensis</i> <b>Julio Chávez-Galarza</b> , Bragança, Portugal
17H50 - 18H10	Estrutura populacional e variabilidade genética da abelha ibérica ( <i>Apis mellifera iberiensis</i> ) revelada por marcadores do adn mitocondrial e nuclear: implicações na actividade apícola <b>Maria Alice Pinto</b> , Bragança, Portugal
18H10	Sessão de encerramento







## SESSÕES PLENÁRIAS

P1 - Las amenazas para la salud de las abejas: de los patógenos a los pesticidas  
*Mariano Higes Pascual*, Marchamalo, Espanha

P2 - Ordenamento apícola com recurso a metodologias SIG  
*Ofélia Anjos*, Castelo Branco, Portugal

P3 - Visão sobre os ultimos dez anos de investigação em pólen apícola  
*Maria Campos*, Coimbra, Portugal

P4 - Estado de conservación de las poblaciones de abejas en España  
*Pilar de la Rúa*, Múrcia, Espanha

## Las amenazas para la salud de las abejas: de los patógenos a los pesticidas

**Mariano Higes Pascual\***

Centro Apícola de Castilla-La Mancha, Patología Apícola, San Martín s/n, 19180, España

\*mhiges@jccm.es

En los últimos años, se han reportado grandes pérdidas de poblaciones de abejas melíferas en muchos países de Europa y América del Norte. Aunque hay múltiples factores involucrados en este fenómeno, los parásitos pueden ser particularmente importantes en este descenso, ya que realizan una presión de selección clave para la mayoría de organismos, incluyendo a los insectos. En nuestra investigación, hemos analizado la presencia de los principales parásitos y virus de las abejas melíferas y los insecticidas neonicotinoides en el polen almacenado, en colmenares profesionales afectados por despoblamiento y mortalidades elevadas de colonias de la abeja de la miel (síntomas CCD o fenómeno de despoblamiento). Nuestros resultados confirman que los parásitos (principalmente *Nosema ceranae*, Tripanosomatidos, *Acarapis woodi*) son muy prevalentes en las explotaciones apícolas analizadas y son responsables del colapso de colonias.

Los insecticidas neonicotinoides que han demostrado presentar una alta toxicidad en las abejas, en nuestro país no son los plaguicidas más prevalentes en las colmenas de abejas, y no parecen jugar un papel principal en la mortalidad de las colmenas. Otras causas posibles, como los diferentes cultivos (girasol, maíz), las prácticas apícolas, los tratamientos acaricidas, etc, también han sido evaluados por nuestro grupo de trabajo.

## Ordenamento apícola com recurso a metodologias SIG

Ofélia Anjos<sup>1,2\*</sup>, Paulo Fernandez<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico de Castelo Branco, Escola Superior Agrária, Portugal

<sup>2</sup>Centro de Estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Portugal

<sup>3</sup>ICAAM - Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Universidade de Évora, Portugal

\*ofelia@ipcb.pt

A desertificação e a fragmentação da floresta são reconhecidas como fatores de grande influência na degradação da paisagem em Portugal. A perda contínua de floresta é em grande parte derivada do desequilíbrio entre as necessidades humanas e a capacidade sustentável da natureza.

O sector do mel é uma atividade normalmente ligada à atividade agro-florestal. Para os agricultores, a atividade apícola reveste-se de especial importância devido ao facto de as abelhas serem essenciais na polinização da maioria das culturas e sem as quais a produtividade baixa para valores insustentáveis. A apicultura oferece um grande potencial para o desenvolvimento local e regional sendo defendida não só como uma atividade autónoma, mas também, como uma forma de melhorar o rendimento das famílias.

A produção mundial de mel tem conhecido um acréscimo permanente nos últimos anos, em número de efetivos e em produção de mel. Em termos de produção passou-se das 1 254 830,10 ton produzidas em 2000 para 1 540 242,10 em 2010 [1]. Em Portugal este acréscimo tem sido também significativo havendo ainda potencialidade para um crescimento maior, pelo facto de a Europa ser deficitária em relação aos produtos da colmeia e nomeadamente em mel [2].

Para uma melhor gestão e organização de uma atividade em crescimento é necessário criar mecanismos de ordenamento, gestão e tomada de decisão para esta atividade.

Alguns trabalhos têm sido efetuados sobre a temática do ordenamento apícola com recurso a metodologias SIG no sentido de criar modelos de apoio à tomada de decisão [3-10].

Nestes trabalhos foram integradas várias variáveis num Sistema de Informação Geográfica (SIG) e desenvolvidas metodologias de análise espacial para elaboração de cartografia temática de suporte ao ordenamento apícola. A cartografia temática relacionada com o potencial apícola de uma região foi elaborada através do geoprocessamento das variáveis: ocupação do solo, composição florística, hidrografia, rede viária, aglomerados populacionais, modelo digital do terreno, exposições de encostas, radiação solar, proximidade de fontes de radiação e fontes poluidoras.

Segundo Anjos *et al* [3] e Fernandez *et al* [4], a sobreposição de diferentes fontes de informação com SIG identifica áreas com potencial apícola, áreas ilegais e zonas com menor potencialidade apícola. Segundo esses autores esta ferramenta permite simular cenários de colocação de novos apiários e de reposicionamento de apiários com vista a uma maior produção e uma adequada utilização dos recursos, em conformidade com os requisitos legais. A informação produzida na forma de cartografia temática é um instrumento de gestão apícola.

Neste trabalho pretende-se apresentar as potencialidades desta metodologia de ordenamento apícola, para posterior aplicação, a nível nacional, através do mapeamento e análise espaço-temporal das variáveis biofísicas, biológicas, físicas e químicos mais importantes para a atividade apícola.

No futuro, pretende-se que esta ferramenta SIG, em fase de desenvolvimento, fique disponível para ser utilizada no ordenamento e gestão da atividade apícola.

### Referências:

- [1] FAO, (<http://faostat.fao.org/>) acedido em junho (2012).
- [2] M. Gonçalves. *Simpósio Nacional Biodiversidade e Apicultura*, Castelo Branco, 17 maio (2013).
- [3] O. Anjos, J. Marques, P. Fernandez, J. Neto, D. Alves. *O Apicultor: Revista de Apicultura*, **80**, 2-9 (2013).
- [4] P. Fernandez, J. Marques, O. Anjos, *Revista AGROTEC/Setembro*, 41-47 (2013).
- [5] O Anjos, G Silva, S Borrego, P Fernandez, *XXXIII Apimondia International Congress*, Ucrânia, Kiev, 160-161 (2013).
- [6] N. Roque, E. Lidónio, P. Fernandez, *IV Encontro de Sistemas de Informação Geográfica. Aplicações SIG em Recursos Agro-Florestais e Ambientais*, 84-85 (2013).

- [7] F. Amiri, A. Rashid, M. Shariff, *African Journal of Agricultural Research*, **7** (1), 89-97 (2012).
- [8] F. Amiri, A. Rashid, M. Shariff, S. Arekhi, *World Applied Sciences Journal*, **12** (7), 962-972 (2011).
- [9] E. Lidónio, F. Graça, N. Roque, I.M. Antunes, O. Anjos, *IV CER - Congresso de Estudos Rurais, Mundos Rurais em Portugal - Múltiplos Olhares, Múltiplos Futuros*. Universidade de Aveiro, 4 a 6 de Fevereiro, 86-100 (2010).
- [10] N. Maris, S. Mansor, H.Z. Shafri, *J. Trop. Agric. Sci.*, **31** (2), 147-162 (2008).



## Visão sobre os últimos dez anos de investigação em pólen apícola

Maria G. Campos<sup>1\*</sup>, Ofélia Anjos<sup>2,3</sup>, Débora Amâncio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Estudos Farmacêuticos da Faculdade de Farmácia e Centro de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia - Universidade de Coimbra, Pólo das Ciências da Saúde, Azinhaga de Santa Comba, Coimbra, Portugal

<sup>2</sup>Instituto Politécnico de Castelo Branco, Escola Superior Agrária, Portugal

<sup>3</sup>Centro de Estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Portugal

\*mgcampos@ff.uc.pt

Os últimos dez anos têm sido muito proveitosos no que concerne à investigação desenvolvida em pólen apícola. Alguns países implementaram regulamentos específicos de comercialização incluindo metodologias de controlo de qualidade. Felizmente, a quantidade de resultados analíticos que já existem de várias fontes florais de muitos países são capazes de nos permitir ter num curto prazo um panorama da produção quase total do mundo, correspondente obviamente aos países produtores mas também prever quais os que poderão vir a ser produtores consoante os recursos de fontes florais que dispõem.

Ainda que perseguindo o objectivo de que o pólen apícola comercializado tenha a melhor qualidade possível, em primeiro lugar, a colheita do produto deve seguir as melhores práticas e o Projeto Europeu APIFRESH deu uma contribuição importante com a recente publicação do “Guia de Boas Práticas para a colheita de pólen apícola e da sua conservação” [1].

Muitas outras fontes de inovação como novas abordagens no discernimento das cargas de pólen apícola usando visão computacional [2] e uma avaliação completa sobre as amostras utilizando FT-IR [3] estão incluídas nesta pesquisa como ferramentas importantes para serem utilizadas num futuro próximo como métodos analíticos mais generalizados.

Uma outra novidade que irá concentrar muita informação é a edição do terceiro volume do COLOSS BEEBOOK [4] (onde se vão incluir métodos padrão relacionados com a investigação desenvolvida na investigação de produtos da *Apis mellifera*).

Estão a ser reunidos os resultados das várias fontes florais de modo a poder iniciar-se o processo das monografias principais a incluir, por exemplo, na Farmacopeia Europeia e assim poderem vir a ser incluídas em formulações farmacêuticas de registo simplificado conforme o uso tradicional.

Mais estudos validados ainda são precisos com este objetivo para poderem proporcionar um desenvolvimento a curto prazo de um documento que garanta ao consumidor um produto de qualidade e uma avaliação de risco de acordo com a legislação.

A determinação de contaminantes tóxicos, tais como metais pesados e pesticidas, entre outros, devem ser incluídas nos documentos finais. Outro aspecto fundamental é a contaminação de plantas geneticamente modificadas, cujo impacto ainda é imprevisível, e isso ainda precisa de investigação, porque há poucos resultados disponíveis sobre esta questão.

A recolha de todos estes dados e a sua publicação conjunta abre uma contribuição significativa para a rentabilidade dos produtos apícolas e também permite ao consumidor a confiança que é crucial para garantir bons produtos no mercado.

Como conclusão, podemos dizer que depois de toda a investigação que tem sido feita com o pólen apícola várias das principais fontes monoflorais estão quase totalmente estudadas em muitos países produtores, onde eles têm contribuído com recursos financeiros importantes para o desenvolvimento deste produto.

### Referências:

[1] <http://www.apifresh.eu/results>

[2] M. Chica, P. Campoy Cervera, *Journal of Food Engineering*, **112**, 50-59 (2012).

[3] C.S. Pappas, P.A. Tarantilis, P.C. Harizanis, M.G. Polissiou, *Applied Spectroscopy*, **57**, 23-27 (2003)

[4] <http://www.coloss.org/beebook>

## Estado de conservación de las poblaciones de abejas en España

**Pilar de la Rúa\***

Área de Biología Animal, Departamento de Zoología y Antropología Física, Facultad de Veterinaria,  
Universidad de Murcia, 30100 Murcia (España)

\*pdelarua@um.es

La conservación de las poblaciones de abejas es un tema de gran actualidad dada la preocupante desaparición de las mismas acontecida en la última década [1]. Desde finales del siglo XX, diversas agrupaciones de apicultores han mostrado gran interés en la conservación de las poblaciones de abejas, y desde la Universidad de Murcia hemos realizado un gran esfuerzo por proporcionar apoyo científico a dichas iniciativas.

En esta conferencia voy a exponer un resumen de los proyectos llevados a cabo tanto al nivel peninsular [2] como al insular [3, 4], empezando por una breve descripción de las técnicas moleculares y de los muestreos realizados. Mientras que la situación en la cabaña peninsular no es preocupante respecto a la introducción de otras razas y líneas de abejas reinas, en las islas la situación es más complicada puesto que el nivel de introducción es elevado en algunas de ellas [5], lo que sin duda tiene un gran impacto no solo en la conservación de las poblaciones locales adaptadas a las especiales condiciones de insularidad sino también en su salud [6]. Como resultado de estos trabajos podemos concluir que son necesarias medidas eficaces para la protección de las poblaciones locales de abejas mediante planes de conservación que incluyan la instalación de colmenares de cuarentena y de áreas de apareamiento [7] entre otras medidas.

### Referencias:

- [1] P. De la Rúa, R. Jaffé, R. Dall'Olio, I. Muñoz, J. Serrano, *Apidologie*, **40**, 263-284 (2009).
- [2] F. Cánovas, P. De la Rúa, J. Serrano, J. Galián, *J. of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **46**, 24-30 (2008).
- [3] P. De la Rúa, J. Galián, J. Serrano, R.F.A. Moritz, *Molecular Ecology*, **19**, 1733-1742 (2001).
- [4] P. De la Rúa, J. Galián, J. Serrano, R.F.A. Moritz, *Apidologie*, **32**, 417-427 (2001).
- [5] I. Muñoz, M.A. Pinto, P. De la Rúa, *Apidologie*, **44**, 295-305 (2013).
- [6] I. Muñoz, A. Cepero, M.A. Pinto, R. Martín-Hernández, M. Higes, P. De la Rúa, *Infection, Genetics and Evolution* (en prensa).
- [7] I. Muñoz, P. De la Rúa, *Journal of Apicultural Science*, **55**, 141-148 (2012).







## COMUNICAÇÕES ORAIS

CO1 - A nosemose em Portugal  
**Paulo Russo**, Vila Real, Portugal

CO2 - Incidencia del hongo patógeno *Ascosphaera apis* en colonias de abejas de la región de murcia  
**Laura Nicolás**, Murcia, Espanha

CO3 - Api-Herb en el control orgánico de la Nosemosis tipo C (*Nosema ceranae*, Microsporidia)  
**António Nanetti**, Bolonha, Itália

CO4 - Evolución de la sanidad apícola en la macaronesia durante la última década  
**Irene Muñoz**, Murcia, Espanha

CO5 - Potencialidade acaricida de óleos essenciais da flora aromática Portuguesa no controlo da *Varroa destructor*  
**Ana Lima**, Bragança, Portugal

CO6 - Atualização sobre acaricidas à base de amitraz: A Formulação contribui para a segurança e a eficácia  
**Benoit Siefert**, Villebon sur Yvette, França

CO7 - Aplicación de redes neuronales en la determinación de origen botánico de miel a partir de sus propiedades físico-químicas  
**Carla Comesaña**, Vigo, Espanha

CO8 - A morfometria geométrica como ferramenta para a conservação das abelhas  
**Tiago Franco**, São Paulo, Brasil

CO9 - Valoración de diferentes fuentes de azúcares utilizados en la alimentación artificial de las abejas (*A. Mellifera*)  
**Víctor Olivares**, Aguascalientes, México

CO10 - Avaliação das atividades anti-inflamatória e anti-mutagénica de pólen apícola Português  
**Xésus Feas**, S. Tiago Compostela, Espanha

CO11 - “Pão de abelha” do Nordeste Transmontano: caracterização química e nutricional  
**Andreia Tomás**, Bragança, Portugal

CO12 - Origen Botánico y Contenido en proteína de mieles artesanales procedentes de colmenares de Galicia (NO de España)  
**M<sup>a</sup> Pilar Sá-Otero**, Vigo, Espanha

CO13 - Caracterización de mieles monoflorales de Portugal con potencial uso en quemaduras  
**Ruben Bonilla**, Bragança, Portugal

CO14 - Influencia de la temperatura y tiempo de almacenamiento en la calidad de mieles monoflorales de Portuga  
**Diana Trujillo**, Picoyán, Colombia

CO15 - Utilização de células imobilizadas na produção de hydromel  
**Ana Pereira**, Bragança, Portugal

CO16 - Análisis sensorial de mieles en la universidad de Salamanca  
**Jose Sánchez**, Salamanca, Espanha

CO17 - Características reológicas da água mel da região do Algarve  
**Ana Figueira**, Faro, Portugal

CO18 - A composição da própolis Portuguesa  
**Soraia Falcão**, Bragança, Portugal

CO19 - Composição fenólica do própolis da região sul do Brasil. Avaliação da atividade antioxidante por técnicas espectroscópicas e eletroquímicas  
**Joana Coelho**, Bragança, Portugal

CO20 - Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de própolis de diferentes localidades

**Paula Vanessa**, Bragança, Portugal

CO21 - Proximidade entre as doses citotóxicas de própolis para linhas celulares tumorais e não-tumorais

**Ricardo Calhella**, Bragança, Portugal

CO22 - Introgessão materna da linhagem c nas populações de abelha melífera dos arquipélagos da Madeira e Açores

**Dora Henriques**, Bragança, Portugal

CO23 - Identificando genes que favorecem la adaptaci3n local en *Apis mellifera iberiensis*

**Julio Ch3vez-Galarza**, Bragança, Portugal

CO24 - Estrutura populacional e variabilidade gen3tica da abelha ib3rica (*Apis mellifera iberiensis*) revelada por marcadores do adn mitocondrial e nuclear: implica33es na actividade apícola

**Maria Alice Pinto**, Bragança, Portugal

## A nosemose em Portugal

**Paulo Russo-Almeida<sup>1</sup>, Sância Pires<sup>2</sup>, António Murilhas<sup>3</sup> e Maria José Valério<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Departamento de Zootecnia, Laboratório Apícola - LabApis<sup>utad</sup>, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal

<sup>2</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO)/ESA Bragança, Instituto Politécnico, Portugal; spires@ipb.pt

<sup>3</sup>António Murilhas ICAAM, Universidade de Évora, Portugal, murilhas@uevora.pt

<sup>4</sup>LNIV, Laboratório Nacional de Investigação Veterinária, Portugal; mjose.valerio@iniav.pt

\*prusso@utad.pt

A mortalidade de colónias ocorrida no inverno de 2006 nos EUA e as réplicas que se seguiram, dado o contexto atual, a dimensão, a sintomatologia distinta e os ecos um pouco por todo o mundo de relatos de mortalidade idênticos, despertaram a humanidade para o risco do desaparecimento das abelhas. O fenómeno ficou conhecido por “Síndrome de Despovoamento de Colónias” (SDC), uma vez que as colónias mantinham as suas características mas as abelhas desapareciam. Entre várias causas apontadas, uma mereceu especial destaque, o microsporídio *N. ceranae* (Nc), presumivelmente recém-introduzido e com características mais agressivas que o *Nosema apis* (Na), até então único causador da Nosemose no ocidente. A realização do presente estudo, com duração de 3 anos, financiado pelo Programa Apícola Nacional, teve como pressuposto essa hipótese e visou conhecer a realidade portuguesa quanto ao agente em causa.

Com o intuito de avaliar o panorama nacional quanto à eventual mortalidade anormal de colónias que configurasse uma situação de SDC, foi iniciado o estudo em 2011, com a realização de 662 entrevistas telefónicas a apicultores registados ( $\pm 4\%$  do total nacional), selecionados em todo o país pelo número total de colónias e pela distribuição geográfica dos seus apiários. A entrevista seguiu o modelo de inquérito “Coloss”. Na sequência das entrevistas, foram escolhidos um total de 227 apiários ( $\pm 3$  por município), representando toda a parte continental do país, para se proceder à recolha de abelhas forrageiras à entrada das colmeias nos dois anos seguintes, uma no período outonal e outra no período primavera. A deteção e quantificação dos esporos de *Nosema* basearam-se no método indicado pela OIE [1]. Uma alíquota do macerado de abdómenes de 60 abelhas de cada apiário foi objeto de análise microscópica em câmara de *Neubauer*, ao que se seguiu uma análise molecular baseada na PCR. O objetivo foi identificar a espécie de *Nosema* presente, conforme publicado recentemente no ‘BEEBOOK’ [2]. Adicionalmente, avaliou-se o potencial de mitigação dos efeitos da nosemose pela uso de dois produtos comerciais, designadamente o ‘VitaFeed Gold’ e o ‘ApiHerb’.

Do resultado das entrevistas foi possível obter uma estimativa da caracterização da apicultura nacional quanto aos aspetos focados no inquérito e concluir que a mortalidade de colónias não foi tão elevada como o reportado noutros países. O nível de infestação médio para os dois períodos de amostragem foi de 750 mil esporos por abelha. A espécie *N. ceranae* foi a única identificada, com uma prevalência média de 51% nos apiários estudados em todo o país e nos dois períodos de amostragem, variando entre 12% no distrito de Lisboa e 89% no distrito de Aveiro. Apesar de ser visível uma variação considerável nos níveis de prevalência entre distritos, não foi possível estabelecer tendências ou padrões geográficos no que diz respeito à relação transectos norte/sul, interior/litoral ou mesmo quanto à altitude dos apiários. Os resultados obtidos nos testes de campo sugerem que o ‘VitaFeed Gold’ contribuiu para a contenção do crescimento da carga média de esporos de Nc por abelha e para o favorecimento do crescimento populacional das colónias em que é aplicado. Nenhuma destas duas ‘mais-valias’ foi evidenciada em colónias que receberam o ‘ApiHerb’ ou pertencentes a grupos de controlo experimental, isto é, em colónias sem alimentação artificial ou em colónias alimentadas com soluções de sacarose (1:1, p/v).

### Referências

- [1] OIE, Terrestrial Manual 2008. Nosemosis of honey bees. In: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Chapter 2.2.4, pp. 410-414 (2010).
- [2] V. Dietemann, J.D. Ellis, P. Neumann (Eds.) The COLOSS BEEBOOK, Volume II: standard methods for Apis mellifera pest and pathogen research, *Journal of Apicultural Research*, 52 (2013)



## Incidencia del hongo patógeno *Ascosphaera apis* en colonias de abejas de la región de Murcia

Laura Jara\*, Diego Martínez, Irene Muñoz, Pilar De la Rúa

Área de Biología Animal, Departamento de Zoología y Antropología Física, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, 30100 Murcia (España).

\*laura.jara@um.es

Las Ascosporesis o cría yesificada, causada por el hongo *Ascosphaera apis* (Maassen ex Claussen) [1,2], es una micosis invasiva que afecta a larvas en desarrollo, debilitando la colonia y actuando como factor de estrés en la misma [3,4]. Esta enfermedad está ampliamente extendida en España y su aparición y evolución en las colonias se ha relacionado con diversos factores ambientales y de manejo de las colonias [5,6] como el enfriamiento de la cría, los desequilibrios nodriza/cría, la elevada humedad o pobre ventilación de la colmena, el debilitamiento de la colonia por otras enfermedades, etc. El objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto de la trashumancia intensiva, que en España realizan más del 80% de las colonias, en la dispersión de esta enfermedad.

Para ello, se ha puesto en marcha la detección molecular mediante la amplificación por PCR de la región intergénica transcrita (ITS1) del gen ribosomal del hongo *A. apis*, optimizando en primer lugar, la extracción del ADN. Se ha partido de muestras de abejas individuales y de *pool* de abejas, testando tres protocolos distintos de extracción: protocolo de Chelex modificado de Walsh *et al.* (1991) [7], protocolo modificado de Ivanova *et al.* (2006) [8] y protocolo modificado de Martín-Hernández *et al.* (2007) [9]. El protocolo de extracción mediante Chelex resultó el más eficaz, además de tratarse del método más rápido y económico de entre los tres estudiados. Posteriormente, se ha estudiado la incidencia del hongo *A. apis* en colonias tanto estantes como trashumantes de abejas ibéricas de la Región de Murcia, con el fin de determinar el efecto de la trashumancia en la dispersión de este patógeno. Los resultados mostraron una incidencia significativamente mayor de *A. apis* en el grupo de colonias trashumantes (el 100% de las colonias presentaron el hongo *A. apis*) frente a las estantes (61,9%), confirmando la hipótesis de partida del estudio, que apunta a una correlación significativa entre la práctica de la trashumancia (y con ella el mayor manejo de las colonias) y el aumento en la incidencia del hongo patógeno *A. apis*.

### Referencias:

- [1] C.F. Spiltoir, American Journal of Botany, **42**, 501 (1955).
- [2] C.F. Spiltoir, L.S. Olive, Mycologia, **47**, 238 (1955).
- [3] M. Wood, Journal of Economic Entomology, **46**, 16 (1998).
- [4] O.A. Zaghloul, A.K. Mourad, M.B. El Kady, F.M. Nemat, M.E. Morsy, Communications in agricultural and applied biological sciences, **70**, 703 (2005).
- [5] J.M. Flores, J.A. Ruiz, J.M. Ruz, F. Puerta, M. Bustos, F. Padilla, F. Campano, Apidologie, **27**, 185 (1996).
- [6] A.E. Borum, M. Ulgen, Journal of Apicultural Research, **47**, 170 (2008).
- [7] P.S. Walsh, D.A. Metzger, R. Higuchi, Biotechniques, **10**, 506 (1991).
- [8] N.V. Ivanova, J.R. Dewaard, P.D.N. Hebert, Molecular Ecology Notes, **6**, 998 (2006).
- [9] R. Martín-Hernández, A. Meana, L. Prieto, A. Martínez-Salvador, E. Garrido-Bailón, M. Higes, Applied and Environmental Microbiology, **73**, 6331 (2007).



## Api-Herb en el control orgánico de la nosemosis tipo C (*Nosema ceranae*, microsporidia)

**Antonio Nanetti<sup>1</sup>\*, Raquel Martín-Hernández<sup>2</sup>, Tamara Gómez-Moracho<sup>2</sup>, Riccardo Cabbri<sup>1</sup>, Mariano Higes<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura, Unità di Ricerca di Apicoltura e Bachicoltura, CRA-API, Bologna, Italia.

<sup>2</sup>Laboratorio de Patología Apícola, Centro Apícola Regional, Consejería de Agricultura, JCCM, 19180 Marchamalo, España

\*antonio.nanetti@entecra.it

*Nosema ceranae* es uno de los patógenos más importantes que afectan a la industria apícola en todo el mundo. Recientes estudios muestran una alta prevalencia en Europa, sobre todo en los países Mediterráneos, como por ejemplo, España e Italia. Razones no aclaradas totalmente (medio ambiente, genética del hospedador y del parásito, etc.), hacen que exista un aparente gradiente de virulencia Norte-Sur, siendo en el sur donde se describen los cuadros clínicos más virulentos. La transmisión del parásito se produce por contacto abeja-abeja, por trofalaxia, por limpieza o contacto con material o alimentos contaminados. También otros insectos o ciertos pájaros insectívoros pueden ser fuentes potenciales de transmisión de las esporas infectivas o reservorios en el medio ambiente.

La infección de las abejas se produce en el ventrículo, y como resultado de la misma, se produce un envejecimiento prematuro y un acortamiento en la vida de la abeja. En la colonia, la enfermedad puede permanecer como asintomática durante un largo periodo de tiempo, mientras que ésta es capaz de compensar la continua muerte de abejas. Sin embargo, cuando se rompe este equilibrio, se manifiestan síntomas parecidos a los descritos para el CCD. No todas las colonias del apiario muestran los mismos síntomas a la vez y la enfermedad se manifiesta en diferentes grados dependiendo de ciertas variables (edad de la reina, diferencias genéticas, manejo...).

Se han hecho intentos de desarrollar medicamentos orgánicos con el fin de poder controlar la nosemosis tipo C, pero en la mayoría de los casos no se han obtenido resultados adecuados. En el presente trabajo se muestran los resultados de ensayos de laboratorio y campo para determinar la eficacia contra la nosemosis del producto comercial ApiHerb, que contiene extractos de plantas que pueden ser activos contra el desarrollo de los microsporidios. En el ensayo preliminar de laboratorio, a abejas enjauladas e infectadas con *N. ceranae*, se les suministró Api-Herb, Fumagilina o un placebo durante 24 horas. Al décimo día se observó un efecto, ya que los recuentos de esporas medios fueron  $3 \cdot 10^6$  en el grupo del Api-Herb (N=8) y  $0,1 \cdot 10^6$  en el grupo de la Fumagilina (N=4), inferiores a los del grupo con placebo ( $5,6 \cdot 10^6$ ; N=10). En un ensayo de campo en la región de Cerdeña (Italia), colonias de abejas muy parasitadas se trataron en primavera con Api-Herb (tres veces con una semana de intervalo; N=11), fumagilina (dos veces con una semana de intervalo; N=11) o jarabe (agua y azúcar; N=9). El recuento medio de esporas de *Nosema* por abeja se realizó antes de aplicar los tratamientos y a los 21 días. Las diferencias encontradas en los recuentos medios fueron respectivamente: -49.3%, -60.3% y +7.7% en cada grupo. Por último, en otro ensayo realizado en España, dos grupos de 5 colmenas cada uno, infectadas de manera natural, recibieron un tratamiento con ApiHerb o placebo (jarabe de agua y azúcar) durante tres días. En este caso se estimó el porcentaje de parasitación en abejas pecoreadoras y de interior antes y después de las aplicaciones. En las colmenas tratadas con Apiherb se constató un descenso del 29% en abejas pecoreadoras y un 100% en las abejas de interior (ninguna abeja parasitada). En el grupo de colmenas que recibieron placebo, el porcentaje de abejas infectadas aumentó un 500% en pecoreadoras y un 200 % en abejas de interior.

Estos resultados demuestran que el producto ApiHerb es efectivo en el control de la Nosemosis tipo C en las condiciones de nuestros ensayos.

## Evolución de la sanidad apícola en la Macaronesia durante la última década

**Irene Muñoz<sup>1,3\*</sup>, Almudena Cepero<sup>2</sup>, M. Alice Pinto<sup>3</sup>, Raquel Martín-Hernández<sup>2</sup>,  
Mariano Híges<sup>2</sup>, Pilar De la Rúa<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Área de Biología Animal, Dpto. de Zoología y Antropología Física, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, 30100 Murcia, España

<sup>2</sup>Centro Apícola Regional (CAR), Dirección General de la Producción Agropecuaria, Consejería de Agricultura, Junta de Castilla-La Mancha, 19180 Marchamalo, España

<sup>3</sup>CIMO/Escuela Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal

\*irenemg@um.es

La abeja de la miel (*Apis mellifera*) es un componente esencial de agricultura moderna y de los ecosistemas naturales debido principalmente a su función polinizadora. Sin embargo, se ha detectado un declive en las poblaciones de abejas al nivel mundial durante los últimos años. Esta disminución ha sido relacionada con deficiencias dietéticas, con la acción de diferentes plaguicidas y con la dispersión y el efecto de diversos patógenos. En el contexto de este último aspecto, presentamos aquí una primera visión del estado sanitario de las colmenas de la región macaronésica (Islas Canarias, Azores y Madeira) y su evolución a lo largo de las últimas décadas. Para ello se tomaron muestras de un total de 352 colmenas, en las que se detectaron mediante técnicas moleculares la presencia de los siguientes parásitos y patógenos: *Varroa destructor*, *Acarapis woodi* y *Braula* spp, *Nosema apis* y *Nosema ceranae*.

Se discute sobre la introducción de nuevos patógenos y los cambios en la frecuencia de los parásitos observados en las colmenas de Macaronesia, así como su relación con las prácticas apícolas que se llevan a cabo en dicha región.

## Potencialidade acaricida de óleos essenciais da flora aromática portuguesa no controlo da *Varroa destructor*

A. Sofia Lima<sup>1,2</sup>, Didier Crauser<sup>3</sup>, Yves Le Conte<sup>3</sup>, Miguel Vilas-Boas<sup>2\*</sup>, A. Cristina Figueiredo<sup>1\*</sup>

1 Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências de Lisboa, Departamento de Biologia Vegetal, IBB, Centro de Biotecnologia Vegetal, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal

2 CIMO, Centro de Investigação de Montanha, Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal

3 INRA, UR 406 "Abeilles et Environnement", Domaine Saint Paul - Site Agroparc, 84914 Avignon, France

\*acsf@fc.ul.pt; mvboas@ipb.pt

*Varroa destructor* é um ácaro ectoparasita da abelha europeia *Apis mellifera* L. que se encontra mundialmente disperso, com exceção da Austrália. Constituinte uma das maiores ameaças para a apicultura, é muitas vezes associado ao fenómeno do *Colony Collapse Disorder* (CCD) [1]. Os tratamentos acaricidas nem sempre garantem a eficácia, uma vez que a varroa tem vindo a adquirir-lhes resistência. Além disso, existe uma preocupação crescente com a acumulação de resíduos químicos nos produtos da colmeia. A utilização de fitoacaricidas, em particular o uso de óleos essenciais (OEs), surge como uma promissora fonte alternativa de compostos para o tratamento e controlo da varroa.

Neste estudo foi avaliada a atividade acaricida de oito OEs isolados de plantas da flora aromática portuguesa, pertencentes às Lamiaceae: *Mentha pulegium* L., *Origanum virens* L., *Satureja montana* L., *Thymbra capitata* (L.) Cav., *Thymus caespititius* Brot., *Thymus mastichina* L., *Thymus villosus* subsp. *lusitanicus* (Boiss.) Coutinho e *Thymus zygis* L.. Os OEs foram isolados por hidrodestilação e analisados por GC e GC-MS de acordo com [2]. A ação acaricida dos OEs e a sua toxicidade nas abelhas foi avaliada pelo método de exposição completa [3], utilizando obreiras emergentes naturalmente infestadas com varroa. Testaram-se diferentes concentrações de OE e os respetivos controlos (positivo, negativo e branco), num total de quatro réplicas (n = 20 abelhas/concentração). Os bioensaios decorreram em condições controladas de temperatura e humidade relativa, e as observações foram registadas ao fim de 24 e 48h.

Nesta avaliação preliminar, com exceção do OE de *O. virens* que se mostrou inativo, os restantes OEs provocaram repelência e/ou mortalidade na varroa. Em ensaios futuros, pretende-se otimizar as concentrações dos OEs a testar, de modo a reduzir o efeito tóxico nas abelhas e quantificar a dose letal mínima para a varroa.

### Agradecimentos:

À Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) pelo apoio no âmbito do projeto PTDC/CVT-EPI/2473/2012 e da Bolsa de Doutoramento SFRH/BD/76091/2011, e ao COST Action FA1006 pela bolsa de curta duração COST-STSM-ECOST-STSM-FA1006-280813-034420.

### Referências:

- [1] P. Rosenkranz *et al.*, *Journal of Invertebrate Pathology* **103**, 96-119 (2010).
- [2] P. Barbosa *et al.*, *Journal of Nematology* **42**, 8-16 (2010).
- [3] N. Damiani *et al.*, *Parasitology Research* **106**, 145-152 (2009).

## Atualização sobre acaricidas à base de amitraz: a formulação contribui para a segurança e a eficácia

*Benoit Siefert<sup>1\*</sup>, Raphaele Massard<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Laboratoire Veto-Pharma, 14 av du QUEBEC, 91140 Villebon sur Yvette, France

\*info@vetopharma.com

Deve ser concedida especial atenção à formulação utilizada, no tratamento contra a Varroa, que provou ser da maior importância, em dois aspectos fundamentais, na medicação: Segurança e Eficácia.

**A formulação contribui para a segurança das abelhas e dos consumidores:** A formulação de um medicamento tem uma grande influência sobre os resíduos que permanecem nas colmeias depois de um tratamento. Um estudo de 2012 [1], demonstrou que após um tratamento com Apivar® na dose certa não são detectáveis resíduos no mel, nem mesmo após um tratamento de 2x ou 10x acima da dosagem recomendada. Por outro lado, vestígios de amitraz já foram detectados no mel, muito provavelmente devido ao uso de outras formas de amitraz não formulados especificamente para abelhas.

**A Formulação contribui para a segurança das abelhas:** Um levantamento regional a 4672 colônias monitorizou as perdas de Inverno, na Alsácia [2] durante o Inverno 2010/11 e a correlação entre estas perdas e o tratamento acaricida utilizado durante o Outono. A morte das colônias durante o Inverno está muito relacionada com o acaricida usado antes da invernada: a taxa média de mortalidade das colônias tratadas com Apivar (n=1495) foi 18% contra 32% para as colônias tratadas com formulações ilegais de amitraz.

**A Formulação contribui para a eficácia:** A Federação Francesa de Apicultura realiza, anualmente, desde 2007, uma monitorização de campo, sobre a eficácia dos acaricidas autorizados, em França, para o tratamento do Varroa. Apivar é o mais efetivo dos produtos, desde o primeiro ano de monitorização, com uma eficácia média entre 97% e 98% [3].

**Conclusão:** os ensaios têm demonstrado que a formulação tem um enorme impacto sobre o efeito dos medicamentos, como a eficácia e a segurança. Alguns bioensaios laboratoriais foram usados para comparar a toxicidade, no mel, de ingredientes ativos por si só, bem como das formulações feitas habitualmente com esses ingredientes [4]. Verificou-se que a formulação acaricida Taktic® foi 4 vezes mais tóxica para as abelhas adultas, por via oral, do que o ingrediente ativo puro amitraz, sozinho. Como consequência, os apicultores devem estar, particularmente, atentos à qualidade do produto, bem como, ao número de ingredientes inertes, e que podem ter consequências negativas inesperadas.

### References:

- [1] J. Pettis, USDA-ARS, Amitraz transferência de resíduos no mel de colmeias de *Apis mellifera* tratadas com Apivar, Beltsville, MD USA (2013).
- [2] A. Baxis-ADA Alsace, Abeilles & Fleurs. Resultados levantamento Regional: Perdas de Inverno na Alsácia, Inverno 2010-2011, (2011).
- [3] FENOSAD, Revisão de 6 anos de monitorização de campo 2007-2012, em apiários Franceses.
- [4] J.L. Frazier *et al*, The Formulation Makes The Bee Poison, Department of Entomology, Center for Pollinator Research, The Pennsylvania State University, University Park, PA 16802.

## Aplicación de redes neuronales en la determinación de origen botánico de miel a partir de sus propiedades físico-químicas

Carla Iglesias<sup>1\*</sup>, Ofelia Anjos<sup>2,3</sup>, Javier Martínez<sup>4</sup>, Fátima Peres<sup>2</sup>, Ángela García<sup>1</sup>, Javier Taboada<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ingeniería de los Recursos Naturales y Medio Ambiente, Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Minas, Universidad de Vigo, España

<sup>2</sup>Instituto Politécnico de Castelo Branco, Escola Superior Agrária, Portugal

<sup>3</sup>Centro de Estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Portugal

<sup>4</sup>Centro Universitario de la Defensa, Academia General Militar, Spain

\*carlaiglesias@uvigo.es

Las mieles portuguesas tienen una variedad de características y colores que pueden influenciar la preferencia del consumidor. En concreto, el color de la miel se relaciona con el origen floral, el clima, el contenido mineral, el procesamiento y el almacenamiento [1].

La determinación del origen botánico de la miel es un procedimiento muy lento y de difícil ejecución, por lo que es importante encontrar metodologías alternativas de análisis para su determinación. En este trabajo, se define el problema de clasificación mediante redes neuronales [2], una técnica de “machine learning”, para la predicción del origen botánico de miel a partir de sus propiedades físico-químicas.

Las redes neuronales permiten la predicción de una o varias variables de salida a partir de un cierto número de variables de entrada, para lo cual emplean una serie de neuronas en una capa intermedia oculta. Mediante un proceso de validación cruzada la red es entrenada y validada. La tasa de error del proceso de clasificación se optimiza a través de la variación del número de neuronas de la capa oculta, procediendo a entrenar la red neuronal con un número creciente de neuronas hasta que dicho incremento no hace que la tasa de error disminuya [3]. En este estudio se hicieron numerosas pruebas, no sólo con distinto número de neuronas en la capa oculta, sino también con diferentes variables de entrada con el objetivo de hallar aquellas cuya información es determinante para una óptima predicción de la clase de miel.

La base de datos manejada se compone de un total 49 muestras de miel de 14 clases distintas, 12 de ellas monoflorales (*Ceratonia siliqua* L., *Prunus dulcis* (Miller) D.A. Webb, *Quercus rotundifolia* Lam., *Castanea sativa* Mill., *Eucalyptus globulus* Labill. Labill. Labill., *Citrus* spp., *Lavandula* spp., *Thymus vulgaris* L., *Erica* spp. y *Helianthus annuus* L.) y 2 multiflorales. De dichas muestras se conocen los siguientes parámetros: humedad, conductividad eléctrica, actividad de agua, contenido en cenizas, pH, acidez libre, coordenadas colorimétricas en el espacio CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) y contenido de fenoles total.

Las reducidas tasas de error (5%) nos permiten concluir que el origen botánico de miel puede conocerse de manera fiable, objetiva y rápida a partir de la información colorimétrica y de la conductividad eléctrica de las muestras.

### Referencias:

- [1] J. Bertoncelj, U. Dobersek, M. Jamnik, T. Glob, *Food Chemistry*, **105**, 822-828 (2007).
- [2] C.M. Bishop, *Neural networks for pattern recognition*. New York, Oxford University Press (2008).
- [3] C. Schittenkopf, G. Deco, W. Brauer, *Neural networks*, **10**, 505-516 (1997).



## A morfometria geométrica como ferramenta para a conservação das abelhas

**Tiago Mauricio Francoy<sup>1</sup>\***

<sup>1</sup>Escola de Artes, Ciências e Humanidades, Universidade de São Paulo

\*tfrancoy@usp.br

Em tempos recentes, nos quais o desaparecimento das abelhas vem causando diversas preocupações sobre a segurança alimentar mundial, a conservação das espécies de abelhas é fator fundamental para a preservação de nosso modo de vida. Dentre as ações prioritárias voltadas para esta preservação, encontramos o desenvolvimento e a utilização de ferramentas auxiliares que permitam a identificação de diferentes espécies e subespécies, bem como a avaliação da variabilidade genética das populações e a possível existência de ecótipos adaptados a diferentes condições ambientais. Apesar do enorme desenvolvimento das áreas da genômica e da bioinformática, a morfometria geométrica de asas vem se mostrando uma alternativa extremamente viável e informativa na avaliação do status populacional e na identificação de grupos, como populações, subespécies e espécies de abelhas. Consiste basicamente na comparação de diferentes formas obtidas a partir da marcação de marcos anatômicos nas junções das nervuras das asas e posterior análise estatística. Os resultados obtidos até o momento mostram sucesso na identificação de diferentes espécies de abelhas solitárias e abelhas sem ferrão no Brasil, bem como na identificação das abelhas africanizadas e outras subespécies de *Apis mellifera*. O baixo custo de utilização desta técnica, sua acessibilidade e os avanços na área computacional deverão transformar esta técnica em uma das mais populares ferramentas na identificação de abelhas nos próximos anos.

## Valoración de diferentes fuentes de azúcares utilizados en la alimentación artificial de las abejas (*A. mellifera*)

Víctor H. Franco<sup>1\*</sup>, Carlos M. Echazarreta<sup>2</sup>, Enrique G. Hernández<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Aguascalientes

<sup>2</sup>Universidad Autónoma de Yucatán

<sup>3</sup>Universidad Autónoma de Aguascalientes.

\*vhfranco@correo.uaa.mx

Las abejas necesitan un amplio rango de elementos alimenticios para satisfacer sus requerimientos nutricionales que aseguren su crecimiento y desarrollo. Estos incluyen proteínas, carbohidratos, minerales, grasas, lípidos, vitaminas y agua. La alimentación energética, es necesaria en temporadas de escasez y en precosecha (L. N. Standifer, 2005). En la alimentación artificial, son utilizados diferentes productos para preparar soluciones azucaradas (jarabe); como el azúcar de caña o remolacha, alta fructosa y glucosa (Blaise W. Leblanc et. al. 2009). El objetivo del trabajo, fue evaluar el impacto de tres soluciones azucaradas en forma de jarabe a una concentración de 55° Brix (jarabe de sacarosa, jarabe de fructosa y una mezcla con 50% de jarabe de sacarosa y 50% de jarabe de fructosa) en la alimentación artificial de las abejas, el efecto sobre el incremento de peso (IP) de las colonias, los patrones de postura (PP) de las reinas (cantidad de cría producida), y la producción de miel (PM), así como la respuesta en la productividad apícola. El estudio se llevó a cabo en el apiario experimental de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Se formaron cuatro grupos (un grupo control y tres grupos experimentales); a cada grupo experimental se les proporcionó una solución azucarada estandarizada (55° Brix), utilizando ingredientes y proporciones diferentes. El análisis estadístico empleado fue bajo un diseño completamente al azar, donde los factores del modelo fueron: las soluciones, los grupos, el incremento de peso, la cantidad de cría y la producción de miel. El estudio no mostró diferencias significativas entre los grupos en tratamiento para las variables analizadas (IP, PP y PM), pero sí con respecto al grupo control donde se observaron resultados inferiores; por lo tanto, el estudio sugiere la conveniencia de alimentar a las colmenas con cualquiera de las soluciones utilizadas, ya que se observaron resultados superiores entre las colmenas tratadas y las del grupo control donde hubo colonias que no lograron un adecuado desarrollo.

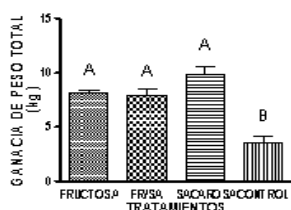


Figura 1. Promedio de ganancia de peso.

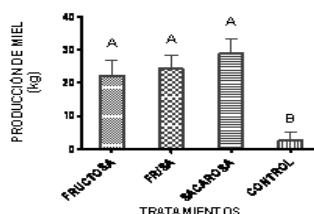


Figura 2. Promedio de producción de miel.

### Referências:

- [1] B.W. Leblanc, HFCS and HMF are not all they are cracked up to be for a honey bees diet (2009)
- [2] EW Jr. Herbert, Honey Bee Nutrition, Inn: Graham, J. (Ed). The Hive and The Honey bee. Dadant and Co.; Hamilton, IL., USA pp. 197-224 (2000).
- [3] M.H. Haydak, *Honey Bee Nutrition. Ann. Rev. Entomol.*, 15, 143-156 (1970).
- [4] L. N. Standifer, *Apitec*, 48, 9-18 (2005).

## Avaliação das atividades anti-inflamatória e anti-mutagénica de pólen apícola português

**Sandra Rodrigues<sup>1</sup>, Alfredo Teixeira<sup>1</sup>, Xesus Feás<sup>3</sup>, Leticia M. Estevinho<sup>2\*</sup>**

<sup>1</sup>CIMO, Centro de Investigação de Montanha, Instituto Politécnico de Bragança, Portugal.

<sup>2</sup>CEAV, Centro de Ciência Animal e Veterinária, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila-Real, Portugal.

<sup>3</sup>Departamento de Química Orgânica, Faculdade de Ciências, Universidade de Santiago de Compostela, Lugo, Espanha.

\*leticia@ipb.pt

O pólen apícola é o resultado da aglutinação do pólen efetuada pelas abelhas, mediante acréscimo de substâncias salivares e pequenas quantidades de néctar ou mel [1]. É utilizado na alimentação humana devido ao seu conteúdo em substâncias nutricionalmente essenciais e devido ao elevado teor de compostos fenólicos. Têm sido também relatados efeitos benéficos para a saúde humana como a prevenção de problemas da próstata, dessensibilização de alergias, aterosclerose e neoplasias [2].

O presente trabalho teve como objetivo avaliar as atividades anti-inflamatória e anti-mutagénica e a determinação dos compostos bioativos de oito amostras de pólen apícola português.

A origem da amostra A não estava especificada no rótulo, as amostras B, C, D e G são provenientes de várias regiões de Portugal e as restantes de Espanha. A amostra E apresentou a mais alta concentração de compostos fenólicos ( $32.15 \pm 2.12$  mg/g) e a amostra H a inferior ( $18.55 \pm 0.95$  mg/g). Relativamente aos flavonoides, a concentração mais elevada foi obtida para a amostra C ( $10.14 \pm 1.57$  mg/g), enquanto para a amostra H foi obtido o valor mais baixo ( $3.92 \pm 0.68$  mg/g). Todas as amostras apresentaram atividade anti-mutagénica, ainda que algumas amostras tenham sido mais eficazes na diminuição do número de colónias com conversão génica e colónias mutantes. Contudo, apenas duas amostras (D e H) reverteram significativamente mutações para todas as concentrações utilizadas. No que diz respeito à atividade anti-inflamatória, avaliada utilizando a enzima hialuronidase, o valor mais alto foi registado para a amostra D ( $25.17 \pm 3.18\%$ ), seguido do obtido para a amostra B ( $23.60 \pm 2.17\%$ ).

### Referências:

- [1] L.M. Estevinho, S. Rodrigues, A.P. Pereira, X. Feás, *International Journal of Food Science and Technology*, **47**, 429-435 (2012).

## “Pão de Abelha” do nordeste transmontano: caracterização química e nutricional

Andreia Tomás<sup>1</sup>, Soraia Falcão<sup>1</sup>, Miguel Vilas-Boas<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>CIMO - Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal.

\*mvboas@ipb.pt

O “pão de abelha” é um produto da colmeia com origem no pólen transportado pelas abelhas para o interior da colmeia, ao qual é adicionado mel e enzimas digestivas e posteriormente armazenado, nos favos, dando início a uma fermentação láctica que lhe confere maior poder de conservação.[1] É uma fonte de nutrientes para as abelhas, rica em proteínas, minerais, gorduras e outras substâncias fundamentais para o desenvolvimento da colónia. Uma das contribuições para o seu maior valor nutritivo deve-se à presença de uma quantidade significativa de vitaminas e compostos fenólicos, que como antioxidantes naturais, são responsáveis por muitas das suas propriedades biológicas.[2] As potencialidades da aplicação do “pão de abelha” como suplemento alimentar e como nutracêutico dependem em grande parte da sua riqueza na composição química, a qual varia diretamente com a flora da região e com a época de recolha pelas abelhas. Neste trabalho estudaram-se 17 amostras de “pão de abelha” do Nordeste Transmontano de Portugal, concelho de Bragança e Vinhais, bem como uma amostra de “pão de abelha” comercial e uma amostra de pólen proveniente também da mesma região. O estudo incidiu na análise da composição polínica, dos parâmetros nutricionais (nomeadamente a humidade, as cinzas, as gorduras, as proteínas e os açúcares redutores), na presença de vitamina E e nos teores de fenóis e flavonoides.

A análise polínica revelou a predominância de pólenes da família das Fabaceae, Eucalyptus e Cistaceae. A composição nutricional do “pão de abelha” apresentou teores de humidade, cinzas, proteínas e gorduras, de 7-19%, 2-8%, 16-25% e 13-17%, respetivamente. A análise de açúcares por HPLC/RI permitiu identificar a presença de monossacáridos frutose, glucose e esporadicamente arabinose, com valores que variam entre 62 e 78 g/100g. A conjugação destes valores nutricionais confere um valor energético ao “pão de abelha” entre 402 - 468 Kcal/100g. A composição em tocoferóis (vitamina E), avaliada pela aplicação de técnicas eletroquímicas, revelou que este produto apícola é também ele rico nos diversos isómeros, encontrando-se uma presença significativa de  $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -tocoferol,  $\gamma$ -tocoferol e  $\delta$ -tocoferol. A análise da componente fenólica destas amostras, baseada em metodologias espectrofotométricas, resultou num teor em compostos fenólicos totais, de 12 a 52 mg/gBB, enquanto para as flavonas /flavonóis e flavanonas/di-hidroflavonóis os resultados oscilaram de 0,3 a 4 mg/gBB e de 8 a 25 mg/gBB, respetivamente. Os parâmetros obtidos confirmam as potencialidades deste produto apícola como suplemento alimentar.

### Referências:

[1] T.G. Díaz, I.D. Merás, A.G. Cabanillas, M.F. Franco, *Anal. Chim. Acta*, **511**, 231-238 (2004).

[2] S Bogdanov, *BeeProduct Science*, **1**, 6-7 (2011).

## Origen botánico y contenido en proteína de mieles artesanales procedentes de colmenares de Galicia (no de España)

Judit Rodríguez<sup>1</sup>, Sandra Armesto<sup>1\*</sup> y M<sup>a</sup> Pilar de Sá-Otero<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología Vexetal e C. do Solo. Facultad de Ciencias de Ourense. U.Vigo.España

\*saa@uvigo.es

Se ha estudiado el origen botánico de quince mieles producidas en diversos lugares de Galicia y su contenido en proteína, relacionado con su riqueza polínica, con el fin de ver si ambos parámetros son dependientes. Dichas mieles tienen en común ser producidas en pequeñas explotaciones, para consumo familiar y en ubicaciones sin tradición en la producción de miel. Son mieles de una única extracción anual, que se realizó por centrifugado entre los meses de agosto o septiembre, del año 2010.

Se han obtenido: MIELES MILFLORES, siete monoflorales de *Frangula alnus*, dos monoflorales de *Castanea sativa* y una monofloral de brezo. MIELES MILFLORES: Siete mieles milflores muy diversas en su espectro polínico (4 milflores de *Castanea sativa* predominante y 1 milflores de *Frangula alnus* predominante). Es la primera referencia de mieles monoflorales de *Frangula alnus* para la Península Ibérica y para Galicia. Estas tienen como particularidad su escasa diversidad en el espectro polínico.

No existe reglamentación en la IPG para esta clase de mieles monoflorales por lo que se ha considerado como requerimiento mínimo un porcentaje del polen de *Frangula alnus*, mayor del 45% y se propone como combinaciones polínicas mayoritarias: *Frangula alnus*-*Castanea sativa* y *Frangula alnus*-*Rubus ulmifolius*-t.

Su riqueza polínica ha sido baja: Ocho, de Clase Mauricio I (muestras 4,5,6,7,9,10,11,12 y 13); tres, de clase Mauricio II (muestras 1, y 15); dos de clase Mauricio III (muestras 2 y 8) y Una, de clase Mauricio IV (muestra 14).

El contenido en proteína se halla comprendido entre el 0,09 mg prot./ g miel y 4.83 mg prot./g miel. Se obtiene una amplia variabilidad de difícil interpretación en mieles de espectros polínicos semejantes.

Se ha encontrado que la cantidad relativa de polen de determinados taxones tiene una relación de proporcionalidad inversa con el contenido proteico, siendo estos los de *Calluna vulgaris*, *Lotus corniculatus*, *Jasione montana*, *Frangula alnus*, en el caso de las mieles milflores; los de *Castanea sativa*, en las mieles de contenido mayoritario en polen de *Frangula* y *Castanea*

Por otra parte, la cantidad relativa de polen de determinados taxones tiene una relación de proporcionalidad directa con el contenido proteico, tales como el de *Castanea sativa* en las mieles de contenido mayoritario en polen de, *Frangula* y *Castanea*, *Cytisus scoparius*-t., salvo en el caso de las mieles monoflorales; *Eucalyptus globulus*, *Prunus spinosa*-t., *Rubus ulmifolius*-t., *Scandix pecten-veneris*-t. y *Trifolium arvensis*-t. Por su parte, el polen de *Echium plantagineum*-t. parece mostrar una relación de independencia o ligeramente positiva.



## Caracterización de mieles monoflorales de diferentes regiones de Portugal

**Rubén A. Ortega<sup>1,\*</sup>, Luís Dias<sup>1</sup>, Luís M. Cunha<sup>2</sup>, Leticia Estevinho<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Biologia e Biotecnologia, Instituto Politécnico de Bragança, CIMO, Centro de Investigação de Montanha.

<sup>2</sup>Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação, Universidade do Porto

\*raortega@ipb.pt

En la actualidad, la miel es un producto natural muy estudiado en el campo de la investigación biomédica debido a sus reconocidos potencial antioxidante [1], antiinflamatorio y antimicrobial [2]. Estas propiedades se han asociado con el alto contenido de azúcar, bajos valores de pH y el contenido de glucosa oxidasa, enzima que cataliza la transformación de la glucosa en peróxido de hidrógeno, producto que posee una alta capacidad antimicrobial. En prácticas clínicas principalmente se usan la miel de Manuka y Medihoney (originarias de Nueva Zelanda y Australia) debido a que poseen una alta actividad antimicrobial atribuida a la presencia del a-oxoaldehído, metilglioxal [3]. En estudios preliminares desarrollados al interior del Centro de Investigación de Montaña se han observado en mieles de Portugal, favorables propiedades para su uso en el cuidado de cicatrices [4], pero se requieren más estudios de caracterización de éstos productos que soporten posteriores estudios de evaluación de actividad biológica.

El objetivo de este estudio es la caracterización de 14 mieles monoflorales de las principales regiones productoras de Portugal, las cuales se describen a continuación de acuerdo a su nombre local y distrito de producción: Urze (Vila Real y Braganza), Echium (Braganza y Evora), Castanheiro (Vila Real), Poejo (Lisboa), Laranjeira (Faro), Rosmaninho (Lisboa), Tomilho (Lisboa), Eucalipto (Lisboa), Medronheiro (Lisboa), Alfarrobeira (Lisboa).

La evaluación fisicoquímica muestra que los resultados de pH, acidez libre, azúcares reductores y humedad enmarcan las mieles estudiadas dentro de los parámetros establecidos por la Legislación Europea de calidad [5]. Urze, Echium, Poejo, Rosmaninho, Eucalipto, Medronheiro y Alfarrobeira superan, alguno o varios, de los límites establecidos para conductividad, sacarosa aparente, hidroximetilfurfural e índice diastásico. Además, se presentarán resultados de la actividad antioxidante y del contenido de fenoles y flavonoides, su predominancia y posible contribución en la actividad biológica disponible para fines médicos.

### Referencias:

- [1] J. Bardy, N.J. Slevin, K.L. Mais, A. Molassiotis, *J Clin Nurs*, **17**, 2604-2623 (2008).
- [2] X. Feás, J. Pires, M.L. Estevinho, A. Iglesias, J.P.P. De Araujo, *Int J Food Sci Technol*, **45** 1255-1262 (2010).
- [3] L. Vandamme, A. Heyneman, H. Hoeksema, J. Verbelen, S. Monstrey, *Burns*, **39** 1514-1525 (2013).
- [4] S. Gomes, L.G. Dias, L.L. Moreira, P. Rodrigues, L. Estevinho, *Food Chem Toxicol*, **48** 544-548 (2010).
- [5] European Economic Community, Council Directive 2001/110 relating to honey, pp. 47-52 (2002).

## Influencia de la temperatura y tiempo de almacenamiento en la calidad de mieles monoflorales de Portugal

**Diana Chito Trujillo<sup>1\*</sup>, Sara Barbosa<sup>2</sup>, Marieta Carvalho<sup>2</sup>, Leticia Estevinho<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Química, Universidad del Cauca, Colombia

<sup>2</sup>CIMO, Centro de Investigação de Montanha, Portugal

\*dchito@unicauca.edu.co

La miel es un producto natural reconocido, prácticamente, a nivel mundial por su valor nutritivo, energético y farmacológico [1]. Su composición química, y por defecto, sus características organolépticas, dependen del tipo de miel, origen botánico y geográfico, néctar, tecnologías de producción y condiciones de almacenamiento [2]. Una inadecuada forma de almacenamiento y conservación pueden ocasionar deterioro del producto. Las condiciones climáticas y edafológicas de Portugal [3], como también su rica distribución de flora apícola, potencializan el crecimiento de la producción de miel, esto a su vez, demanda un conocimiento más amplio de las causas de alteración de la calidad del producto.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de 4 mieles monoflorales (Castanheiro, Cerejeira, Rosmaninho, Urze). Las muestra se almacenaron durante 4 meses a temperatura ambiente, 45 °C y en refrigeración. Además, se evaluó el perfil polínico y los atributos sensoriales de las cuatro mieles mantenidas a temperatura ambiente; y se llevó a cabo la identificación de compuestos fenólicos en las mieles oscuras.

Se encontró que las condiciones de almacenamiento incidieron principalmente sobre el contenido de hidroximetilfurfural y la actividad diastásica. Se determinaron valores por encima de los límites establecidos por la legislación en mieles almacenadas a 45 °C. La variabilidad de estos parámetros se correlaciono significativamente ( $P < 0.05$ ) con la acidez libre, el pH y el tiempo de almacenamiento. Los indicadores de calidad comercial, sanitaria y de seguridad resultaron satisfactorios para todas las mieles, con algunas excepciones para el caso de la muestra de Castanheiro que se almaceno a 4 °C. El análisis de compuestos fenólicos evidenció la presencia de ácidos fenólicos y de flavonoides, mostrando la Crisina como el compuesto predominante tanto en Castanheiro como en Urze. La evaluación de las propiedades sensoriales mostró que el color, sabor y consistencia fueron los atributos que más fácilmente evaluaron los consumidores, y los que contribuyeron para que la apreciación global de los productos se acentuara. La muestra de Urze presentó los valores más altos en la escala de preferencias de consumo y de compra.

### Referencias:

- [1] E. Mendes, E. Brojo Proença, I.M.P.L.V.O. Ferreira, M.A. Ferreira, *Carbohydrate Polymers*, **37**, 219-223 (1998).
- [2] I. Turhan, N. Tetik, M. Karhan, F. Gurel, H. Reyhan Tavukcuoglu, *LWT - Food Science and Technology*, **41**, 1396-1399 (2008).
- [3] L.R. Silva, R. Videira, A.P. Monteiro, P. Valentão, P.B. Andrade, *Microchemical Journal*, **93**, 73-77 (2009).

## Utilização de células imobilizadas na produção de hidromel

Rafaela Fonseca<sup>1</sup>, Ana Paula Pereira<sup>1,2</sup>, Teresa Dias<sup>1</sup>, Leticia Estevinho<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>CIMO, Centro de Investigação de Montanha, Instituto Politécnico de Bragança

<sup>2</sup>IBB, Centro de Genómica e Biotecnologia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

\*leticia@ipb.pt

A valorização dos produtos da apicultura no mercado nacional e internacional e a organização do próprio sector têm proporcionado o aumento da produção anual de mel, contribuindo de forma significativa para o desenvolvimento socioeconómico das comunidades rurais. Uma forma de aumentar o rendimento dos apicultores seria a transformação do mel não escoado, principalmente o mel considerado de segunda categoria, num produto apreciado e valorizado pelos consumidores. O hidromel é uma bebida alcoólica tradicional, que contém entre 8 a 18% (v/v) de etanol, que resulta da fermentação do mel diluído realizada por leveduras.

Este trabalho teve como objetivo estudar o efeito da utilização de células imobilizadas de levedura *Saccharomyces cerevisiae* em alginato de cálcio e consequentemente, a sua reutilização na produção de hidromel, usando mel de segunda categoria.

A qualidade do mel de segunda categoria foi avaliada através de análises físico-químicas e a sua origem botânica determinou-se através da análise polínica. Na imobilização das células de *S. cerevisiae* foram utilizadas duas concentrações diferentes de alginato de cálcio (2% e 4%). As células imobilizadas foram usadas em cinco fermentações sucessivas. As fermentações foram monitorizadas diariamente através da leitura da densidade ótica, determinação das unidades formadoras de colónias e determinação dos açúcares redutores. No final das fermentações, a qualidade do hidromel foi avaliada através da determinação de vários parâmetros enológicos (pH, acidez volátil, acidez total, azoto assimilável, SO<sub>2</sub> total, açúcares redutores e teor alcoólico).

O mel de segunda categoria utilizado neste trabalho é um mel escuro monofloral de *Castanea* sp. e, é um produto alimentar de boa qualidade e adequado para a produção de hidromel.

Relativamente à produção de hidromel observou-se que a imobilização de células não influenciou de forma significativa o rendimento, o teor alcoólico, o pH e a acidez total. Relativamente à produção de ácido acético observou-se concentrações entre 0,70 e 1,08g/L, valores abaixo do limite legal (1,2 g/L) para o vinho branco. Nas fermentações conduzidas com células imobilizadas em esferas de alginato, tanto a 2% como a 4%, a velocidade de consumo de substrato foi superior relativamente ao processo realizado com células livres, reduzindo a duração da fermentação.

Verificou-se a libertação de células para o mosto devido à desintegração das esferas, indicando que a matriz utilizada para a imobilização não foi a mais adequada para a produção do hidromel.

## Análisis sensorial de mieles en la Universidad de Salamanca

Silvia Sánchez Durán<sup>1</sup>, Estefanía Sánchez Reyes<sup>1</sup>, David Rodríguez de la Cruz<sup>1</sup>, José Sánchez Sánchez<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto Hispano-Luso de Investigaciones Agrarias, Universidad de Salamanca. CIALE

\*jss@usal.es

En la Universidad de Salamanca se desarrollan cursos y jornadas de análisis sensorial desde hace más de una década y media. En ocasiones se han realizado estas actividades para completar la formación de algún grupo de alumnos o iniciarles en las actividades propias de las catas de mieles. También nos hemos preocupado, en los laboratorios del Instituto Hispano-Luso de Investigaciones Agrarias (CIALE), por completar y/o complementar las escalas mayoritariamente utilizadas en la descripción de atributos sensoriales de las mieles. Hemos empleado las escalas de [1] y [2] con ligeras adaptaciones y con la participación de unos 400 alumnos, algunos profesores y personal de administración y servicios, en total. Queremos destacar que aproximadamente un 10 % del total, han repetido las jornadas en diferentes ocasiones y pueden ser considerados como catadores, pues a ellos les hemos realizado otras pruebas para conocer su sensibilidad organoléptica. Indicar que en diferentes ocasiones se han realizado propuestas de modificaciones a las escalas mencionadas por parte de nuestro grupo.

Podemos señalar, debido a la cantidad de sesiones de cata que se han realizado, que las mieles que figuran a continuación pueden ser descritas, en cuanto a los atributos de dulce, ácido, amargo, salado, viscosidad, adhesividad y cristalización, de la manera siguiente:

Azahar:	Dulce, 3,4. Ácido, 2,3. Amargo, 1,1. Salado, 1. Viscosidad, 3,3. Adhesividad, 2,7. Cristalización, 4,1.
Romero:	Dulce, 3,7. Ácido, 2,6. Amargo, 1. Salado, 1,2. Viscosidad, 3,4. Adhesividad, 2,8. Cristalización, 1,5.
Eucalipto:	Dulce, 3,8. Ácido, 2,3. Amargo, 1,7. Salado, 1. Viscosidad, 3,7. Adhesividad, 3,2. Cristalización, 2,3.
Encina:	Dulce, 3,6. Ácido, 2,4. Amargo, 1,9. Salado, 1. Viscosidad, 3,3. Adhesividad, 2,7. Cristalización, 1,7.
Castaño:	Dulce, 2,8. Ácido, 2,2. Amargo, 2,6. Salado, 1. Viscosidad, 2,9. Adhesividad, 2,7. Cristalización, 1,3.

Se ha realizado una media de los datos obtenidos del total de alumnos en el conjunto de los cursos y jornadas. Sin pretender que sea una media estadísticamente comprobable consideramos que puede ser un dato extraordinariamente útil para que las mieles puedan ser descritas con detalle.

También se han empleado en las sesiones de cata otras mieles, aunque al haber sido utilizadas de manera puntual no figuran en el listado anterior. De éstas podemos comentar lo siguiente: Las mieles de acacia y de girasol son consideradas como las más dulces. Además, la de acacia es la menos ácida y la de girasol la más ácida. Las de brezo, almendro, aguacate, espliego y zarzamora tienen características intermedias. Por último, la de madroño, como corresponde, es la más amarga de todas.

### Referencias:

- [1] C. de Lorenzo, M. González, *Alimentaria*, 331, 97-102 (2002).
- [2] C. de Lorenzo, M. González, *Alimentaria*, 331, 103-112 (2002).



## Caraterísticas reológicas da água mel da região do Algarve

Ana Perkušić<sup>1</sup>, Voicu Mariş<sup>1</sup>, Teresa Soeiro<sup>1</sup>, Clarisse Ramalho<sup>1</sup>, Vera Gonçalves<sup>1</sup>, Teresa Cavaco<sup>2</sup> e Ana Cristina Figueira<sup>1,3,\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Engenharia Alimentar, Instituto Superior de Engenharia, Universidade do Algarve, Campus da Penha, 8005-139 Faro.

<sup>2</sup>Universidade do Algarve - Escola Superior de Educação e Comunicação, Campus da Penha, 8005-139 Faro, Portugal.

<sup>3</sup>CIEO, Centro de Investigação Sobre Espaço e Organizações, Universidade do Algarve, Campus da Penha, 8005-139 Faro.

\*afiguei@ualg.pt

A água mel é um produto tradicional da região do mediterrâneo na qual se insere o Algarve [1, 2]. Atualmente, não existe legislação específica que estabeleça as características físico-químicas deste produto [3]. A água mel é produzida a partir de subprodutos resultantes da cresta do mel (cera, mel, pólen, própolis, ...), aos quais é adicionada água a ferver numa proporção de 1:2 (m/v). Esta mistura é filtrada e fervida até atingir um ° Brix que pode variar dos 75 a 80 [1].

As propriedades reológicas das amostras de água mel cedidas por diferentes produtores da região do Algarve foram determinadas utilizando um viscosímetro Brookfield DV-II para um intervalo de temperaturas entre os 20 e 40 °C.

Os principais resultados obtidos pela análise das características reológicas demonstraram que a água mel tem comportamento de um líquido Newtoniano, mas bastante diferente do mel que lhe deu origem. O efeito da temperatura nos valores da viscosidade foi avaliado através da utilização da equação de Arrhenius e os valores de  $\mu_0$  e de energia de ativação determinados. A principal relevância deste trabalho prende-se com o facto de que se as constantes da equação de Arrhenius ( $\mu_0$  e  $E_a$ ) para um tipo particular de água mel forem conhecidas, a equação de Arrhenius pode ser utilizada para calcular a viscosidade do produto a uma temperatura específica, ultrapassando a necessidade de realização de determinações morosas e especializadas.

### Referências:

- [1] A.C. Figueira, T. Cavaco, *Journal of Food Processing and Preservation*, **36**, 285-290 (2012).
- [2] M.G. Miguel, L. Faleiro, M.D. Antunes, S. Aazza, J. Duarte, A.R. Silverio, *Food and Chemical Toxicology*, **56**, 136-44 (2013).
- [3] M. Graca Miguel, M. Dulce Antunes, S. Aazza, J. Duarte, M. Leonor Faleiro, *Italian Journal of Food Science*, **25**, 275-82 (2013).

## A composição da própolis portuguesa

Soraia I. Falcão<sup>1,2</sup>, Cristina Freire<sup>2</sup>, Miguel Vilas-Boas<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>CIMO, Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal.

<sup>2</sup>REQUIMTE, Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Rua do Campo Alegre, s/n, 4169-007 Porto, Portugal

\*mvboas@ipb.pt

A própolis é uma resina obtida de plantas que as abelhas utilizam, acrescida de cera, para proteger a colmeia contra a entrada de correntes de ar, de predadores e de microrganismos. Devido ao seu uso em medicina tradicional, nos últimos é o centro de muitos estudos químicos e farmacológicos, evidenciando as propriedades anti-microbianas, anti-inflamatórias, antioxidantes, anti-tumorais. Quimicamente é composta por 50 % de resina (maioritariamente flavonóides e ácidos fenólicos), 30% de cera, 10% de óleos essenciais, 5% de pólen e 5 % de outros compostos orgânicos. Esta composição resulta da origem vegetal da própolis, sendo por isso impossível estabelecer um perfil universal [1].

Este trabalho teve como objetivo a caracterização da própolis Portuguesa, produzida nas diversas regiões do continente e ilhas, e a definição de critérios de qualidade e atividade biológica que permitam associar este produto da colmeia com a sua origem fitogeográfica. A padronização da própolis é um passo imprescindível para a sua valorização comercial. A avaliação incidiu sobre os parâmetros físico-químicos de quarenta amostras de própolis provenientes de seis regiões Portuguesas, particularmente o conteúdo em água, cinzas, ceras, conteúdo balsâmico e índice de cor. Além destes parâmetros, foi também analisada a composição fenólica por técnicas espectrofotométricas e a sua atividade antioxidante. A complexidade da composição fenólica implicou o recurso à espectrometria de massa tandem com ionização por electrospray (ESI-MS<sup>n</sup>) e cromatografia líquida com deteção por matriz de díodos, acoplada a espectrometria de massa tandem com ionização por electrospray (LC/DAD/ESI-MS<sup>n</sup>). Para além do perfil fenólico, o estudo incidiu na componente volátil avaliada por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS). Estes resultados permitiram definir dois padrões de qualidade da própolis Portuguesa bem como estabelecer uma relação das amostras com a sua origem botânica, nomeadamente associando o *Populus* e *Cistus ladanifer* como fontes potenciais utilizadas pelas abelhas na elaboração da própolis. Complementarmente, o trabalho permitiu desenvolver a aplicação de técnicas eletroquímicas, particularmente a voltametria cíclica e a voltametria de impulso diferencial, como uma ferramenta rápida, fácil e de baixo custo na avaliação da atividade antioxidante das amostras de própolis.

Através das diferenças encontradas entre regiões, foi possível efetuar uma discriminação com base na origem geográfica das amostras de própolis, que está associada à biodisponibilidade nas vizinhanças da colmeia, bem como à diversidade associada ao processo de recolha por parte das abelhas que visitam uma grande variedade de plantas para tirar o máximo de vantagem das suas propriedades.

### Referências:

[1] G.A. Burdock, *Food and Chemical Toxicology*, **36**, 347 (1998).

## Composição fenólica do própolis da região sul do Brasil. Avaliação da atividade antioxidante por técnicas espectroscópicas e eletroquímicas

Joana M. Coelho<sup>1</sup>, Soraia I. Falcão<sup>1,2</sup>, Nuno Vale<sup>3</sup>, Alexandre Bera<sup>4</sup>, Renato J. Sousa<sup>4</sup>,  
Ligia B. Almeida-Muradian<sup>4</sup>, Miguel Vilas-Boas<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>CIMO/IPB - Instituto Politécnico de Bragança, Portugal

<sup>2</sup>REQUIMTE/FCUP - Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Portugal

<sup>3</sup>CIQUP/FCUP - Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Portugal

<sup>4</sup>Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Brasil.

\*mvboas@ipb.pt

A própolis é uma substância resinosa recolhida pelas abelhas *Apis mellifera* em diversas fontes vegetais, e utilizada na colmeia para selar as paredes, para fortalecer as extremidades dos favos ou para embalsamar invasores mortos. A especificidade química da própolis é determinada diretamente pela variabilidade das origens vegetais, e também pelas características geográficas e climáticas do local de proveniência [1]. A própolis de regiões tropicais, em particular a própolis de origem Brasileira, é objeto de muitos estudos científicos devido à sua atividade biológica elevada. Em termos comerciais, a própolis verde, predominante no sudeste Brasileiro, é a mais importante, com uma composição rica em derivados prenizados do ácido fenilpropanóico, como a artepilina C e ácidos cafeoilquínicos. Estas substâncias estão associadas aos rebentos da planta alecrim-do-campo, *Baccharis dracunculifolia* [2].

Este trabalho tem como objetivo a identificação e a quantificação de compostos fenólicos em amostras de própolis proveniente do sul e sudeste do Brasil e a avaliação da atividade antioxidante por técnicas espectroscópicas e eletroquímicas. Foram feitos estudos desde a caracterização da cor, cromatografia com espectrometria de massa (LC- MS) para identificação dos compostos, quantificação por cromatografia líquida (HPLC). Para avaliar a atividade biológica dos extratos foram realizados ensaios da capacidade captadora de radicais livres (DPPH) e poder redutor. Por fim, utilizaram-se métodos eletroquímicos como voltametria de impulso diferencial. Com os resultados pretende-se correlacionar a composição química com a atividade biológica, definindo qual as amostras com mais potencial bioativo.

No decorrer deste trabalho, foi possível determinar dois tipos de própolis através do seu perfil cromatográfico e espectroscópico, um do tipo verde, com origem nos rebentos de *Baccharis dracunculifolia*, em que os compostos maioritários foram o ácido dicafeoilquínico e o seu isómero, assim como a artepilina C, e o outro com uma composição fenólica similar ao própolis de choup, presente em apenas uma das amostra (RG53). As amostras que obtiveram uma maior atividade antioxidante, pertencem à região de Minas Gerais, com valores de 0,02mg/mL para o DPPH, 0,99 g/g de extrato para o poder redutor e 0,60 mg/mL para a atividade antioxidante avaliada por técnicas eletroquímicas.

### Referências:

[1] V.S. Bankova, De S.L. Castro, M.C. Marcucci, *Apidologie*, **31**, 3-15 (2000)

[2] A. Salatino, C.C. Fernandes-Silva, A.A. Righi, M.F.L. Salatino, *Nat. Prod. Rep.*, **28**, 925-936 (2011)

## Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de própolis de diferentes localidades

Vanessa B. Paula<sup>1\*</sup>, Ana Paula Pereira<sup>1,2</sup>, Luís G. Dias<sup>1</sup>, Letícia M. Estevinho<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CIMO, Centro de Investigação de Montanha, Instituto Politécnico de Bragança

<sup>2</sup>IBB, Centro de Genómica e Biotecnologia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

\*vanessapaula@ipb.pt

O própolis é uma substância resinosa, obtida pelas abelhas *Apis mellifera*, referido comumente como sendo um “antibiótico natural” que desempenha um papel importante na defesa da colmeia, protegendo-a de microrganismos, fungos e bactérias. Este produto possui na sua composição uma grande variedade de compostos, salientando-se os compostos fenólicos, aos quais se atribuem elevadas atividades antioxidante e antimicrobiana [1].

O presente trabalho tem como objetivo a análise do perfil químico de amostras de própolis de Bornes, Lousã, Vimioso e Chaves baseando-se nos teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais. Os teores de compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu, utilizando como padrão o ácido gálico. Dos extratos de própolis em estudo, o que apresentou maior quantidade de fenóis totais foi o proveniente da Lousã (370.5 mg/g de ácido gálico) e o que apresentou menor quantidade foi o própolis de Chaves (128.7 mg/g de ácido gálico). O doseamento de flavonoides totais baseou-se no método espectrofotométrico usando o reagente cloreto de alumínio e, como padrão a quercetina. Dos extratos analisados, o proveniente da Lousã foi o que apresentou a maior concentração de flavonoides totais (103.2 mg/g de quercetina), enquanto que a menor concentração foi obtida para o própolis de Chaves (36.6 mg/g de quercetina).

A atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos do poder redutor e do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) para as amostras de própolis de Bornes, Lousã, Vimioso e Chaves. Quer para o método do poder redutor, quer para o do DPPH•, o extrato de propolis de Chaves foi o que apresentou maior atividade antioxidante, com valores de EC<sub>50</sub> de 0.67±0.03 mg/mL e de 0.36±0.006 mg/mL para o método do poder redutor e DPPH•, respetivamente.

Neste trabalho avaliou-se também a atividade antimicrobiana dos diferentes extratos de própolis contra alguns dos microrganismos mais frequentemente isolados em pacientes no Centro Hospitalar do Nordeste: bactérias Gram-negativas (*Eschericia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* e *Serratia liquefaciens*), bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) e uma levedura (*Candida albicans*).

As concentrações mínimas inibitórias (CMI), isto é, a mais baixa concentração capaz de inibir o crescimento dos microrganismos em estudo, foram determinadas pelo método de microdiluição em placa. Todos os extratos de propolis apresentaram atividade antimicrobiana, dependendo o efeito do extrato de própolis e do microrganismo, sendo os produtos da Lousã e de Bornes os que apresentaram maior atividade inibitória. O propolis de Chaves apesar de apresentar maior atividade antioxidante foi o que induziu efeitos antimicrobianos menos acentuados. A bactéria Gram-positiva *S. aureus*, foi a mais sensível aos diferentes extratos de propolis, enquanto que a levedura foi a mais resistente.

### Referências:

- [1] A.A. Righi, Perfil Químico de Amostras de Própolis Brasileiras. Dissertação apresentada no Instituto de Biociências Universidade de São Paulo (2008)



## Proximidade entre as doses citotóxicas de própolis para linhas celulares tumorais e não-tumorais

Ricardo C. Calhelha<sup>1,2</sup>, Soraia I. Falcão<sup>1</sup>, Maria João R.P. Queiroz<sup>2</sup>, Miguel Vilas-Boas<sup>1</sup>, Isabel C.F.R. Ferreira<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA, Instituto Politécnico de Bragança, Portugal

<sup>2</sup>Centro de Química, Universidade do Minho, Braga, Portugal

\*iferreira@ipb.pt

A própolis é um produto quimicamente complexo obtido pelas abelhas a partir de exsudados resinosos de diferentes plantas, que é misturado com cera e secreções salivares. A sua composição química é muito variável e dependente da flora disponível em torno da colmeia. Além disso, a composição da própolis depende da sazonalidade, altitude, tipo de coletor, disponibilidade de alimentos e atividade desenvolvida durante a exploração da própolis. Quimicamente foram já identificados mais de 300 compostos na própolis, entre os quais diversas classes de moléculas bioativas como são os compostos fenólicos e que inclui os ácidos fenólicos, os flavonóides e os seus derivados [1].

Estudos recentes, realizados *in vitro* e *in vivo*, sugerem que a própolis apresenta propriedades antitumorais [2]. No entanto, será a sua citotoxicidade específica para células de tumores? Para responder a esta pergunta, avaliou-se a citotoxicidade de seis amostras de própolis portuêses de diferentes origens utilizando linhas celulares tumorais humanas (adenocarcinoma de mama - MCF7, carcinoma de pulmão - NCI- H460, carcinoma do cólon - HCT15, carcinoma da cervical - HeLa e carcinoma hepatocelular - HepG2) e culturas primárias de células não tumorais (PLP2), usando o ensaio colorimétrico da sulforodamina B [3]. Os extratos de própolis estudados apresentaram elevado potencial citotóxico para as linhas celulares tumorais, principalmente para a HCT15. No entanto, com exceção da linha celular mencionada, os extractos mostraram também citotoxicidade para células não-tumorais de fígado (PLP2), nos valores de  $GI_{50}$  obtidos para as linhas tumorais. Os extratos fenólicos da própolis compreendem fitoquímicos que, atendendo às suas propriedades bioativas, requerem estudo adicionais para utilização no tratamento do carcinoma de cólon. Nos outros casos, a proximidade das doses citotóxicas *in vitro* para as linhas tumorais e para as células não-tumorais deve ser confirmada por testes *in vivo* e, consequentemente, considerar a necessidade de isolar compostos específicos dentro do extrato de própolis.

### Agradecimentos:

À FCT e FEDER-COMPETE/QREN/EU pelo financiamento através das unidades de investigação PEst-OE/AGR/UI0690/2011 e PEst-C/QUI/UI686/2011 e da bolsa de pós-doutoramento atribuída a R.C.C. (SFRH/BPD/68344/2010).

### Referências:

- [1] S. Falcão, M. Vilas-Boas, L.M. Estevinho, C. Barros, M.R.M. Domingues, S.M. Cardoso, *Anal. Bioanal. Chem.*, **396**, 887 (2010).
- [2] N. Oršolić, *J. Api. Prod. Api. Med. Sci.*, **2**, 1 (2010).
- [3] R. Guimarães, L. Barros, M. Duenas, R.C. Calhelha, A.M. Carvalho, C. Santos-Buelga, M.J.R.P.Q. Queiroz, I.C.F.R. Ferreira, *Food Chem.*, **136**, 718 (2013).

## Introgressão materna da linhagem C nas populações de abelha melífera dos arquipélagos da Madeira e Açores

**Dora Henriques<sup>1</sup>\*, Julio Chávez-Galarza<sup>1,2</sup>, Maria Alice Pinto<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal

<sup>2</sup>Centro de Biologia Molecular e Ambiental (CBMA), Universidade do Minho, Campus de Gualtar, Braga 4710-057, Portugal

\*dorasmh@gmail.com

A abelha melífera, *Apis mellifera* L., tem como distribuição natural a África, o Médio Oriente e a Europa. A adaptação a diferentes condições ecológicas levou à evolução de 30 subespécies as quais têm sido tipicamente agrupadas em quatro linhagens evolutivas. Enquanto a África é ocupada por apenas uma linhagem, a Africana, na Europa coexistem três linhagens: a Africana (A, na metade sudoeste da Península Ibérica), a Europeia Ocidental (M, em toda a Europa Ocidental, incluindo o nordeste da Península Ibérica) e a Europeia Oriental (C, na Europa central e oriental). Esta última linhagem agrupa as subespécies preferidas por muitos apicultores (*A. m. ligustica* e *A. m. carnica*) as quais têm sido introduzidas no mundo inteiro tendo vindo a causar problemas de introgressão em muitas regiões da área de distribuição natural da abelha melífera.

Estudos anteriores dos padrões de diversidade materna das populações de abelhas de várias ilhas das Canárias e das ilhas da Madeira e São Miguel revelaram (i) uma predominância de haplótipos Africanos, sugerindo uma colonização natural antiga a partir do continente africano, e (ii) níveis variáveis de haplótipos da linhagem C, provavelmente recentemente introduzidos por apicultores. Nesta comunicação irão apresentar-se os resultados de uma amostragem recente do DNA mitocondrial de 186 colónias das oito ilhas dos Açores onde existem abelhas, e de 51 colónias da ilha da Madeira. Tal como esperado, a análise dos resultados mostra uma predominância de haplótipos de origem Africana (predominantemente da sub-linhagem Africana A<sub>III</sub>) em todas as ilhas e níveis de introgressão da linhagem C que variam entre nulo até muito elevado, como é o caso da ilha do Pico. O padrão de diversidade materna dos Açores e Madeira é comparado com o continente e discutido em relação à actividade apícola.

## Identificando genes que favorecen la adaptación local en *Apis mellifera iberiensis*

Julio C. Chávez-Galarza<sup>1,2\*</sup>, Dora Henriques<sup>1,2</sup>, J. Spencer Johnston<sup>3</sup>, José Rufino<sup>1</sup>, M. Alice Pinto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CIMO, Centro de Investigação de Montanha, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal.

<sup>2</sup>CBMA, Centro de Biologia Molecular e Ambiental, Universidade do Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal

<sup>3</sup>Department of Entomology, Texas A&M University, CS, Texas 77843-2475, USA

\*jchavez@ipb.pt

En especies con distribución amplia, las poblaciones locales experimentan frecuentemente condiciones ambientales heterogéneas, bajo las que evolucionan a lo largo de los años. En tales casos, estas condiciones ambientales son supuestamente responsables de moldear la distinta composición genética entre las poblaciones. Sin embargo, la adaptación local puede variar dependiendo de la naturaleza de la adaptación, la fuerza de la selección, el flujo génico, el tamaño efectivo de la población, el nivel de aislamiento genético y la complejidad de los caracteres bajo selección. Para entender mejor estos procesos evolutivos, se ha analizado el genoma de la abeja ibérica, *A. m. iberiensis*, en búsqueda de señales de selección en aquellos genes que favorecen su adaptación local usando los polimorfismos de nucleótidos simples (SNPs) como marcadores. Con este fin, se colectaron un total de 711 individuos de *A. m. iberiensis* en 23 sitios a lo largo de tres transectos Norte-Sur en la Península Ibérica. Esta colección fue genotipada con 1536 SNPs. Se usaron cinco métodos para buscar señales de selección: LOSITAN, ARLEQUIN, BAYESFST, BAYESCAN y MatSAM. Estos métodos identificaron en total 74 SNPs con señales de selección, de los cuales 10 SNPs exhibieron una señal de selección muy fuerte. Los SNPs que presentaron señales de selección fueron localizados en el mapa genómico de *A. mellifera* y se anotó su relación con determinados genes o posibles genes. Las funciones potenciales de estos genes se identificaron usando varias bases de datos genómicas. Los 10 SNPs con señal de selección más fuerte destacaron por estar ligados a posibles genes con funciones biológicas relacionadas con la visión, la detoxificación de xenobióticos y la inmunidad.

## Estrutura populacional e variabilidade genética da abelha ibérica (*Apis mellifera iberiensis*) revelada por marcadores do ADN mitocondrial e nuclear: implicações na actividade apícola

M. Alice Pinto<sup>1\*</sup>, Julio Chávez-Galarza<sup>1</sup>, Dora Henriques<sup>1</sup>, José Rufino<sup>1</sup>, João C. Azevedo<sup>1</sup>, Irene Muñoz<sup>2</sup>, Pilar de la Rúa<sup>2</sup>, John C. Patton<sup>3</sup>, J. Spencer Johnston<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigação em Montanha, IPB, Campus de Sta. Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal

<sup>2</sup>Área de Biología Animal, Dpto. de Zoología y Antropología Física, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo, 30100 Murcia, España

<sup>3</sup>Dept. of Forestry & Nat. Resources, Purdue University, Indiana 4797-2061, USA

<sup>4</sup>Dept. of Entomology, Texas A&M University, CS, Texas 77843-2475, USA

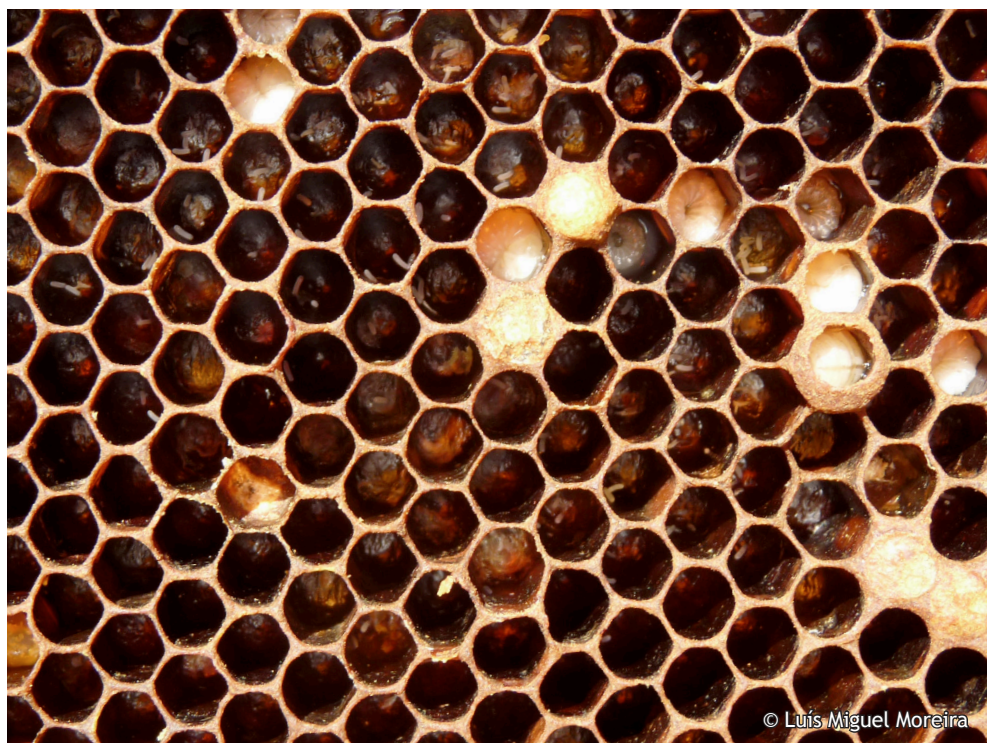
\*apinto@ipb.pt

A conservação da diversidade genética das populações locais de abelhas é fundamental à sustentabilidade da atividade apícola. Primeiro, porque a diversidade genética é a matéria-prima sobre a qual a seleção (natural ou artificial) atua, permitindo a adaptação das abelhas às cada vez mais rápidas alterações ambientais (poluição, pesticidas, novos patógenos e parasitas) e às exigências de uma atividade apícola cada vez mais competitiva. Segundo, porque a perda de diversidade genética pode conduzir à consanguinidade e à redução do valor adaptativo das colónias podendo-se traduzir em perdas de produtividade, maior número de machos diploides e menor resistência aos parasitas e patógenos, entre outros efeitos.

A compreensão dos padrões espaciais de diversidade genética, e dos processos históricos e contemporâneos que tem moldado essa diversidade ao longo dos tempos, é crucial para uma melhor gestão e conservação da abelha ibérica (*Apis mellifera iberiensis*). Apesar dos inúmeros estudos conduzidos na Península Ibérica nas últimas décadas, os padrões e processos de diversidade genética são ainda mal compreendidos. De facto, a grande variedade de marcadores genéticos (morfologia, alozimas, ADN mitocondrial, microsatélites) que tem sido utilizada tem revelado padrões incongruentes de diversidade fazendo da abelha ibérica a mais complexa subespécie na ampla área de distribuição geográfica da espécie *Apis mellifera*.

Nesta comunicação serão apresentados os resultados de um estudo que proporcionará a caracterização mais completa da abelha ibérica jamais realizada através de uma amostragem de elevada resolução quer a nível geográfico quer a nível do seu genoma. Para tal utilizaram-se simultaneamente marcadores mitocondriais (região intergénica tRNA<sub>leu-cox2</sub>) e nucleares neutrais testados (311 SNPs), e avançadas ferramentas analíticas numa coleção de 711 colónias amostradas ao longo de três transeptos ibéricos (costa Atlântica, região central e costa Mediterrânica). Os resultados deste estudo confirmam a elevada complexidade e forte estruturação da abelha ibérica refletida (i) no cline com orientação sudoeste-nordeste formado pelas linhagens evolutivas Africana (A) e da Europa Ocidental (M) e (ii) no acentuado contraste da composição genética das populações do Mediterrâneo e do Atlântico. Em oposição a outros trabalhos genéticos, neste estudo o padrão recuperado pelos SNPs é congruente com a variação materna. Por último, este estudo mostra que o grau de introgressão da linhagem C na abelha ibérica é negligenciável, contrastando fortemente com a outra subespécie da linhagem M, *Apis mellifera mellifera*. As eventuais implicações destes resultados na atividade apícola serão discutidas numa perspetiva de preservação da integridade genética da abelha ibérica.









© Luís Miguel Moreira

## COMUNICAÇÕES POSTER

- CP1 - Análisis de la introgresión en *Apis mellifera iberiensis* y *Apis mellifera mellifera* usando polimorfismos de nucleótidos simples (SNPs)
- CP2 - Comparação dos níveis de introgressão da linhagem C na abelha negra (*Apis mellifera mellifera*) estimados usando microsátélites e SNPs seleccionados pelo critério de proximidade
- CP3 - Resultados preliminares do projeto nacional de vigilância de colmeias - novembro 2013/2014
- CP4 - Prevalência da nosemose na área de influência da APIMIL
- CP5 - Produção de hidromel utilizando mel de *Melipona scutellaris*
- CP6 - Efeito do aumento do espaço interno em colmeias de abelhas *Apis mellifera* L. Na expressão do gene defensina e produção de mel
- CP7 - Modelo experimental para seleção de abelhas *Apis mellifera* africanizada
- CP8 - Óleos essenciais na produção de cera em abelhas *Apis mellifera* L.
- CP9 - Avaliação do consumo da própolis em alimento artificial por abelhas *Apis mellifera* L.
- CP10 - Conservação de tomate (pós-colheita) submetido a diferentes concentrações de extrato alcohólico de própolis
- CP11 - Avaliação da qualidade e rotulagem do mel - adequação à nova legislação
- CP12 - Separação de compostos fenólicos do extrato metanólico de propolis de bornes por TLC
- CP13 - Avaliação da capacidade antioxidante do mel: estudos de validação do método FRAP
- CP14 - Apicultura em modo de produção biológico em Portugal: construir o futuro
- CP15 - Identificação de méis monoflorais usando uma língua electrónica e metodologias de similaridade
- CP16 - Relação entre a cor e o perfil polínico de méis monoflorais usando árvores de decisão
- CP17 - Atividade antioxidante de decocções e infusões de flores de castanheiro, uma árvore de grande interesse apícola
- CP18 - Perfil em ácidos orgânicos e açúcares livres de decocções e infusões de flores de castanheiro
- CP19 - Produção de apitoxina em *Apis mellifera* L. e expressão do gene defensina relacionado ao estresse
- CP20 - Qualidade do mel da Guiné-Bissau
- CP21 - Estudio microbiológico de mieles españolas acogidas a marcas de calidad
- CP22 - Estudio palinológico de mieles españolas acogidas a marcas de calidad
- CP23 - Evaluación de mieles uniflorales raras colectadas en varias regiones de Portugal
- CP24 - Caracterização da composição em açúcares do mel da região de Castelo Branco
- CP25 - Caracterização da atividade antitumoral e antiangiogénica do propolis português usando modelos *in vitro* e *in vivo*
- CP26 - Método de confirmação para análise de resíduos antibióticos em mel
- CP27 - Avaliação de bioactividades de uma amostra de própolis de origem portuguesa
- CP28 - Análise dos mecanismos de atividade biológica do própolis do pereiro
- CP29 - Preparação de extratos de própolis dos Açores e avaliação das suas atividades antimicrobiana e antioxidante
- CP30 - Análise química de mel para garantir conformidade de produto

CP31 - Caracterização de água-mel: análise fenólica, volátil, mineral e actividade biológica

CP32 - Própolis de Marrocos

CP33 - Quantificação de flavonóides em mel

CP34 - Análisis de parámetros importantes para el control de calidad en mieles de Turquía

CP35 - Análisis de parámetros de deterioro y envejecimiento en mieles de Turquía

CP36 - Influência do processo de desidratação sobre a atividade antimicrobiana do pólen apícola desidratado

CP37 - Relevância da floresta portuguesa para as abelhas

## Análisis de la introgresión en *Apis mellifera iberiensis* y *Apis mellifera mellifera* usando polimorfismos de nucleótidos simples (SNPs)

Julio C. Chávez-Galarza<sup>1,2\*</sup>, Dora Henriques<sup>1,2</sup>, J. Spencer Johnston<sup>3</sup>, José Rufino<sup>1</sup>, M. Alice Pinto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CIMO, Centro de Investigação de Montanha, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal.

<sup>2</sup>CBMA, Centro de Biologia Molecular e Ambiental, Universidade do Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal

<sup>3</sup>Department of Entomology, Texas A&M University, CS, Texas 77843-2475, USA

\*jchavez@ipb.pt

Diferentes estudios basados en marcadores morfométricos, ecológicos, microsatélites y mtDNA han agrupado las subespecies de *A. mellifera* en cuatro linajes evolutivos: Africano (A), Medio Oriente (O), Este y Centro de Europa (C), Norte y Oeste de Europa (M). El linaje M está representado por las subespecies *A. m. iberiensis* y *A. m. mellifera*, cuya distribución es la Península Ibérica y desde los Pirineos hacia el Norte de Europa respectivamente. Durante las últimas décadas, la introducción masiva de subespecies del linaje C por parte de los apicultores ha ocasionado un elevado flujo génico y más aún el casi completo remplazamiento de *A. m. mellifera*, como ha sido reportado para Alemania. Por tanto, el análisis de los niveles de introgresión en programas de cría y conservación es de vital importancia para evitar la pérdida de diversidad genética y la sustitución de especies nativas. Este estudio busca identificar los niveles de introgresión de subespecies del linaje C en las subespecies pertenecientes al linaje M a través de un análisis amplio del genoma usando SNPs. Para ello se genotiparon 711 individuos de *A. m. iberiensis* y 88 de *A. m. mellifera* con 1536 SNPs. Las subespecies de linaje C *A. m. ligustica* y *A. m. carnica* se usaron como referencia. Los niveles de introgresión fueron evaluados usando un método de agrupamiento Bayesiano implementado en el software STRUCTURE. Nuestros resultados indicaron que la introgresión en *A. m. iberiensis* no es significativa, a diferencia de *A. m. mellifera* que presentó de 8% a 30% de introgresión. Considerando que muchas de las muestras de *A. m. mellifera* son provenientes de poblaciones integradas en programas de conservación en el Norte de Europa, este resultado evidencia el profundo contraste entre las dos subespecies del linaje M con respecto a su estado de conservación.

## Comparação dos níveis de introgressão da linhagem C na abelha negra (*Apis mellifera mellifera*) estimados usando microsatélites e SNPs seleccionados pelo critério de proximidade

**Helena Ferreira<sup>1</sup>, Dora Henriques<sup>2</sup>, Laura Jara<sup>3</sup>, Julio Chávez-Galarza<sup>2</sup>, Pilar de la Rúa<sup>3</sup>, Maria Alice Pinto<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal

<sup>2</sup> Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal

<sup>3</sup> Área de Biología Animal, Departamento de Zoología y Antropología Física, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo, Murcia 30010, España.

\*helenamf@live.com.pt

Na Europa estão presentes duas linhagens de *Apis mellifera*: linhagem C na parte central e oriental e M na ocidental. A linhagem C agrupa cerca de 10 subespécies, entre as quais se encontram as duas mais utilizadas pela apicultura à escala mundial: a *A. m. ligustica* e a *A. m. carnica*. A linhagem M agrupa apenas duas subespécies: a *A. m. mellifera*, a norte dos Pireneus, e a *A. m. iberiensis*, na Península Ibérica. Durante as últimas décadas a actividade humana tem alterado a distribuição na Europa, sobretudo através da introdução em grande escala de rainhas de *A. m. ligustica* e *A. m. carnica* na área nativa da *A. m. mellifera*.

Para evitar o desaparecimento de *A. m. mellifera*, diversos programas de conservação têm sido aplicados, sendo que o cálculo da taxa de introgressão usando marcadores moleculares é uma ferramenta crucial de gestão das populações de conservação. A maioria dos estudos tem utilizado como marcadores moleculares os microsatélites e o mtDNA. No entanto, os SNPs apresentam vantagens em relação aos microsatélites, tais como: uma boa cobertura do genoma, dados de maior qualidade, e facilidade de automatização usando tecnologias de alta capacidade. Diversos estudos mostram que os microsatélites têm um maior poder discriminatório, sendo necessários 100 SNPs para se ter a mesma informação de 10-20 microsatélites. No presente estudo compararam-se as taxas de introgressão estimadas usando os 12 microsatélites com as estimadas usando dois conjuntos de SNPs (um de 60 e outro de 120). Uma vez que dispúnhamos de um conjunto inicial de cerca de 1436 SNPs, neste trabalho escolhemos os 60 e os 120 SNPs que se encontravam mais próximos (em pares de bases) dos microsatélites. Quando comparamos as taxas de introgressão obtidas nas várias simulações verificámos que 8 dos 77 indivíduos analisados apresentam diferenças superiores a 20%. Neste trabalho irão ser apresentados e discutidos os resultados obtidos.



## Resultados preliminares do projeto nacional de vigilância de colmeias - novembro 2013/2014

M<sup>a</sup> José Valério<sup>1</sup>\*, Ana Amaro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Patologia, Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Saúde e Produção Animal, Instituto nacional de Investigação Agrária e Veterinária

\*mjose.valerio@iniav.pt

O Plano de Vigilância das Colmeias em Portugal, tal como em outros Estados-Membros é apoiado pela participação financeira da União Europeia (EU) e foi legislado pela Decisão Comunitária 3012/512/EU. Segundo a Diretiva Comunitária todos os estudos a efetuar na estação 2013/2014 baseiam-se no documento “Basis for a pilot surveillance project on honey bee colony losses” elaborado pelo Laboratório de Referência da EU (LRUE) para a saúde das abelhas referido no Anexo VII, Parte II, do Regulamento(CE) nº882/2004 do Parlamento Europeu, que fornece orientações para que os Estados-Membros elaborem os respetivos programas de estudos de vigilância voluntários.

O Projeto Nacional de Vigilância de Colmeias, integrado no estudo europeu sobre Perdas de Colónias, contempla três colheitas de material apícola nas cinco Direções Regionais de Agricultura do país, em épocas diferentes, e tem como principal objetivo contribuir para a identificação das principais causas do desaparecimento das abelhas.

O presente trabalho tem como objetivo apresentar os resultados preliminares obtidos , durante a 1ª colheita de abelhas adultas, efetuada entre novembro de 2013 e janeiro de 2014. O método utilizado para a identificação dos agentes patogénicos foi o exame microscópico. Nos casos positivos à Nosemose, procedeu-se ainda à identificação da espécie do microsporídeo *Nosema* sp., utilizando técnicas de biologia molecular designadamente um PCR multiplex para discriminação de *Nosema apis* e *Nosema ceranae*.

## Prevalência da nosemose na área de influência da APIMIL

**Paulo Russo-Almeida<sup>1</sup>, Miguel Maia<sup>2</sup>, Alberto Dias<sup>2</sup> e Teresa Rangel de Figueiredo<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Departamento de Zootecnia, Laboratório Apícola - LabApis<sup>utad</sup>, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real.

<sup>2</sup>APIMIL - Associação Apícola Entre Minho e Lima, Lugar dos Pereiros, Loivos, 4920-070 Vila Nova de Cerveira, apimil@sapo.pt

\*prusso@utad.pt

O dinamismo que a apicultura nacional tem revelado na última década não é alheio nem aos sucessivos programas apícolas nos quais se destaca o acompanhamento técnico especializado, nem à adesão crescente de jovens ao sector. Portugal tem sido uma exceção à tendência mundial de queda no número de colónias, embora já tenham sido relatadas ocorrências de morte de colónias que configuram a “Síndrome de Despovoamento de Colónias”. Uma causa possível apontada para esta síndrome foi a Nosemose, patologia classicamente associada à espécie *Nosema apis* (Na) embora, recentemente, também possa intervir a espécie *N. ceranae* (Nc), cuja propagação global terá resultado do comércio apícola. A avaliação desta hipótese foi alvo do estudo de âmbito nacional [1] financiado pelo do Programa Apícola, no qual o Laboratório Apícola da UTAD - LabApis<sup>utad</sup> - se integrou na equipa de investigadores. Os resultados obtidos confirmaram a presença desse agente patológico em Portugal.

Com o presente estudo os investigadores do LabApis<sup>utad</sup> e da APIMIL pretenderam realizar um rastreio mais pormenorizado da prevalência da Nosemose com o intuito de se constituir uma base de conhecimento para estratégias de ação que venham a ser implementadas na recém-criada Zona Controlada gerida pela APIMIL.

A amostragem consistiu na recolha de abelhas adultas em 38 apiários (não visados no estudo de âmbito nacional) dispersos pela área geográfica em causa. A deteção e quantificação dos esporos de *Nosema* baseou-se no método indicado pela OIE [2]. Uma alíquota do macerado de abdómenes de 50 abelhas de cada apiário foi objeto de análise microscópica em câmara de Neubauer. Para a resolução de dúvidas que esta técnica não permitiu esclarecer com segurança, a distinção entre as duas espécies de *Nosema* foi feita através com recurso à PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) realizando uma reação multiplex com dois pares de ‘primers’ (um específico para o Na e outro para o Nc, simultaneamente. Para se minimizar eventuais falsos resultados negativos, amplificou-se, também em simultâneo, um fragmento de ADN de abelha, o qual serviu de controlo. A prevalência obtida foi de 53%, idêntica à média nacional (51%), mas inferior ao reportado para o distrito de Viana do Castelo (88%), no ano de 2013. A carga de esporos por abelha variou entre 0 e  $4,3 \times 10^6$  com média de  $4,6 \times 10^5$ , valores relativamente baixos quando comparados com os de outros estudos. A análise molecular revelou que apenas estava presente a espécie *N. ceranae*, confirmando os resultados obtidos no estudo de âmbito nacional já mencionado. Na contagem dos esporos, foram ensaiadas duas formas diferentes e ambas produziram valores semelhantes. Constatou-se, ainda, uma relação proporcional entre a carga de esporos e a intensidade das bandas obtidas na imagem do gel de eletroforese do produto de PCR. Contudo, esta relação empírica carece de uma análise quantitativa que se encontra a decorrer.

### Referências

- [1] Projeto PAN - Portugal Apicultura e Nosema - 2010-2013, Financiado pelo Programa Apícola Nacional.
- [2] OIE, Terrestrial Manual 2008. Nosemosis of honey bees. In: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2010, Chapter 2.2.4., pp. 410-414.

## Produção de hidromel utilizando mel de *Melipona scutellaris*

Samira Peixoto<sup>1</sup>, Carlos Alfredo Carvalho<sup>1</sup>, Leticia M. Estevinho<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológica, Cruz das Almas, Bahia, Brasil

<sup>2</sup>CIMO, Centro de Investigação de Montanha, Instituto Politécnico de Bragança, Portugal

\*leticia@ipb.pt

Atualmente, existe uma crescente procura de bebidas fermentadas por parte dos consumidores, particularmente de hidromel, produzido empiricamente desde a antiguidade. De acordo com a literatura, esta bebida tem excelentes efeitos na digestão e metabolismo e é benéfico para doentes com anemia crónica e doenças do trato gastrointestinal [1].

Esta bebida é geralmente produzida utilizando mel de *Apis mellifera*, no entanto, no Brasil existe também mel de abelhas sem ferrão, como *Melipona scutellaris*, com características particulares.

Este trabalho tem como objetivo avaliar a qualidade do hidromel produzido a partir do mel de *Melipona scutellaris*, sendo que, numa primeira fase procedeu-se à caracterização físico-química e à avaliação da segurança microbiológica do mel a utilizar na produção de hidromel. Seguidamente, produziram-se dois tipos de hidromel com diferentes teores alcoólicos, sendo o processo monitorizado relativamente a parâmetros enológicos e de crescimento.

O hidromel apresentou um teor alcoólico ligeiramente superior aos padrões exigidos pela Legislação Brasileira para Hidromel à base do mel de *A. mellifera*. A acidez volátil do hidromel seco ultrapassou ligeiramente o estipulado pela legislação, porém, o ácido acético quantificado por HPLC encontrou-se dentro da norma. As atividades antioxidante e antimicrobiana do hidromel doce foram ligeiramente superiores às do hidromel seco.

Relativamente à análise sensorial, o hidromel doce foi melhor aceite pelos provadores do que o seco. Tendo em conta o potencial deste produto, é importante criar ou ajustar a legislação vigente de forma a regulamentar a identidade e qualidade do hidromel produzido a partir dos méis de meliponíneos.

### Referências:

[1] J.K. Gupta, R. Sharma, *Natural Product Radiance*, **8**, 345-355 (2009).

## Efeito do aumento do espaço interno em colmeias de abelhas *Apis mellifera* L. na expressão do gene defensina e produção de mel

**Samir M. Kadri<sup>1\*</sup>, Edison A. Souza<sup>1</sup>, Paulo E. M. Ribolla<sup>2</sup>, Ricardo O. Orsi<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Núcleo de Ensino, Ciência e Tecnologia em Apicultura Racional (NECTAR). Departamento de Produção Animal - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Estadual Paulista - UNESP - Campus de Botucatu, São Paulo, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Parasitologia - Instituto de Biociências - Universidade Estadual Paulista - UNESP - Campus de Botucatu - São Paulo, Brasil.

\*samirkbr@yahoo.com.br

O mel é o principal produto explorado pelo apicultor brasileiro. Entretanto, por questão de desconhecimento técnico ou economia de tempo, a maioria dos apicultores acrescenta várias “melgueiras” simultaneamente sobre o ninho no início da florada, independente do tamanho da colônia, ocasionando aumento excessivo de espaço interno. Este manejo pode ocasionar estresse no enxame e decréscimo na produção de mel. Diante do exposto, os objetivos do presente trabalho foram avaliar o efeito do aumento do espaço interno da colmeia (adição de melgueiras) e seu efeito na produção de mel e expressão do gene Defensina (relacionado ao estresse) em abelhas *Apis mellifera* africanizadas. O experimento foi realizado na Fazenda Experimental Lageado, UNESP, Campus de Botucatu, São Paulo, Brasil, nos meses de dezembro de 2010 a março de 2011. Foram selecionadas e padronizadas vinte colmeias, divididas em quatro tratamentos, sendo T1: controle, adição de uma melgueira (aumento de 50% no espaço interno) e acréscimo de outras ao longo da florada, conforme a necessidade; T2, T3 e T4: duas(100%), três(150%) e quatro (200%) “melgueiras”, respectivamente, acrescentadas de forma simultânea no início da florada. A produção de mel foi avaliada ao final da florada, por meio de pesagem individual das melgueiras. Para a análise de expressão do gene Defensina, foram coletadas abelhas internas e campeiras nos dias 0, 7, 14, 29, 56 e 98 e congeladas em freezer -80°C até o momento das análises. Os resultados foram comparados por ANOVA, seguida do teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Observou-se que o T1 apresentou produção de mel significativamente maior ( $24,33 \pm 2,14$  kg) em comparação aos demais tratamentos ( $17,50 \pm 1,76$ ,  $14,76 \pm 2,32$  e  $9,81 \pm 1,87$  kg, respectivamente). Na quantificação relativa do gene Defensina, o T4 apresentou expressão significativamente maior em relação aos outros tratamentos. As abelhas colhidas no interior do enxame não apresentaram diferença entre os tratamentos ao longo do período experimental. Não foi observada diferença entre as abelhas campeiras e internas dos tratamentos T1, T2 e T3. As abelhas campeiras do T4 apresentaram maior expressão do gene em relação as abelhas internas. Assim, pode-se concluir que o manejo de adição de espaço interno influencia na produção de mel e que o gene Defensina pode ser utilizado como indicador do nível de estresse em *Apis mellifera* africanizada.

## Modelo experimental para seleção de abelhas *Apis mellifera* africanizada

**Samir M. Kadri<sup>1</sup>**; **Rodrigo Zalusk<sup>1</sup>**; **Ricardo O. Orsi<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Núcleo de Ensino, Ciência e Tecnologia em Apicultura Racional (NECTAR). Departamento de Produção Animal - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Estadual Paulista - UNESP - Campus de Botucatu - São Paulo, Brasil.

\*samirkbr@yahoo.com.br

Apicultores comerciais nem sempre usam programas de melhoramento genético, tendo colônias com diferenças genéticas em apiários comerciais. Assim, estes enxames podem apresentar características genéticas desfavoráveis para a produção de mel. Estas diferenças podem diminuir a eficiência e competitividade do apicultor comercial, tornando-se importante um trabalho de melhoramento genético. Deste modo, é necessário que se desenvolvam modelos experimentais para seleção de enxames com alta produtividade de mel. Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi selecionar enxames com alta produção de mel através da produção de mel, comportamentos defensivo e higiênico. O experimento foi realizado durante a florada silvestre (dezembro de 2013 a março de 2014) que ocorre na Fazenda Experimental Lageado, UNESP, Campus de Botucatu, São Paulo, Brasil. Foram utilizadas 40 colmeias de abelhas *Apis mellifera* africanizadas, manejadas para a produção de mel. A produção de mel foi avaliada individualmente e foram selecionados dois grupos, mais produtivos com produção superior a 10 Kg e menos produtivos com produção inferior a 10 Kg de mel. Comportamento defensivo (número de ferrões deixados em uma bola negra de camurça por um minuto) e higiênico (porcentagem de área limpa após 24 horas das larvas serem mortas) foram mensurados em triplicata. Os resultados foram comparados por ANOVA seguido de teste T e os dados foram correlacionados pelo teste linear de Pearson. Foi considerado estatisticamente diferente quando  $p < 0,05$ . O Grupo de Alta Produção de Mel (GAPM) e Grupo Baixa Produção de Mel (GBPM) produziram  $12,21 \pm 1,5$  Kg e  $4,8 \pm 3,0$  Kg, respectivamente. Foi observado que o GAPM apresentou diferença significativa para produção de mel em relação ao GBPM. O comportamento defensivo mostrou baixa quantidade de ferrões no GAPM ( $27,00 \pm 8,2$ ) comparado ao GBPM ( $36,80 \pm 13,5$ ). Os dados de comportamento higiênico não mostram diferença ( $86,7 \pm 4,4$  e  $85,70 \pm 8,4$  para GAPM e GBPM, respectivamente). Os dados não tiveram correlação entre as variáveis analisadas. Pode-se concluir que abelhas africanizadas com alta produção de mel apresentam baixo comportamento defensivo.



## Óleos essenciais na produção de cera em abelhas *Apis mellifera* L.

Renata L. Lomele<sup>1</sup>\*, Mônica M. Ito<sup>1</sup>, Ricardo O. Orsi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Núcleo de Ensino, Ciência e Tecnologia em Apicultura Racional - NECTAR. Departamento de Produção Animal - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Estadual Paulista UNESP - Botucatu, São Paulo, Brasil

\*isrenata@hotmail.com

A cera é um produto apícola de extrema importância para o ninho, representando a matéria-prima de construção, além de contribuir como fonte de renda extra para o apicultor. Os óleos essenciais são misturas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas, com diversas funções biológicas, conhecidas pelo cheiro que caracteriza certas plantas. Dentro deste contexto, estes óleos poderiam aumentar o agrupamento de abelhas em áreas livres da colmeia, favorecendo o incremento da produção de cera. Desta forma, os objetivos do estudo foram avaliar a produção de cera em *Apis mellifera* africanizadas, utilizando-se óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon nardus*); eucalipto (*Eucalyptus* sp); capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e erva doce (*Foeniculum vulgare*), considerando também o desenvolvimento populacional do enxame. Foram utilizadas 20 colônias *Apis mellifera*, alojadas em colmeias modelo Langstroth e padronizadas quanto ao número de quadros de cria e alimento. Foram confeccionadas lâminas de cera alveoladas, as quais foram colocadas em quadros de ninho. Cada quadro recebeu 0,5 mL de cada óleo essencial, de ambos os lados, sendo em seguida colocado em área central do ninho. A medição de área de construção foi realizada semanalmente. Para o tratamento que apresentou efeito significativo na produção de cera, avaliou-se o efeito no desenvolvimento populacional. Os resultados foram comparados por ANOVA, seguida do teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Verificou-se que apenas o tratamento com citronela apresentou produção de cera significativamente maior ( $1090,7 \pm 526,9 \text{ cm}^2$ ) em relação ao controle ( $590,3 \pm 283,2 \text{ cm}^2$ ), sem afetar o desenvolvimento populacional. Os tratamentos com eucalipto ( $806,4 \pm 481,6 \text{ cm}^2$ ), capim-limão ( $664,0 \pm 666,3 \text{ cm}^2$ ) e erva-doce ( $517,3 \pm 648,8 \text{ cm}^2$ ) não apresentaram aumento significativo na produção de cera, em relação ao controle. Desta forma, pode-se concluir que o óleo essencial de citronela (*Cymbopogon nardus*) aumenta a produção de cera, sem apresentar efeito negativo sobre o desenvolvimento populacional de *Apis mellifera*.

## Avaliação do consumo da própolis em alimento artificial por abelhas *Apis mellifera* L.

Edison A. Souza<sup>1</sup>, Luiz H. Simões<sup>2</sup>, Ricardo de O. Orsi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Aluno de Doutorado do curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil.

<sup>2</sup>Aluno de Graduação do curso de Zootecnia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho - UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil

<sup>3</sup>Docente do Departamento de Produção Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil

\*souzaedison@gmail.com

Ultimamente, a própolis tem sido amplamente utilizada em dietas de animais no sentido de elucidar suas propriedades biológicas, como imunomoduladora. Entretanto, poucos estudos foram realizados sobre o efeito da própolis na alimentação de abelhas *Apis mellifera* e qual melhor forma de fornecimento da mesma. Em vista do exposto, o presente trabalho teve como objetivo verificar o melhor método de disponibilização da própolis para abelhas *Apis mellifera* africanizadas por meio de dois tipos de alimentos energéticos (xarope de mel e pasta cândi). A própolis bruta foi obtida por meio de coletor inteligente de própolis. O extrato alcoólico de própolis (EAP) foi preparado a 30% (30 gramas de própolis para 100 mL de álcool etílico 70%) e o extrato aquoso (EAqP) com água destilada no lugar do álcool. Para realização do experimento foram selecionadas 10 colmeias, sendo duas para cada tratamento: T1: controle do álcool 70% - xarope de mel com 30% de álcool 70%; T2: controle aquoso - xarope de mel com 30% de água destilada; T3: 30% EAP em xarope de mel; T4: 30% EAqP em xarope de mel e T5: pasta cândi no qual foram adicionados 30% de própolis bruta triturada (m/m). Foram fornecidos 100 mL de alimento líquido (alimentador tipo Boardman) e 100g de alimento sólido (tipo Topo) Foi realizado a análise descritiva dos dados. Verificou-se que as abelhas consumiram 100% do alimento líquido fornecido, independente do tratamento utilizado. Por outro lado, para a própolis fornecida no alimento sólido, o consumo foi de aproximadamente de 40,5±12,2%. Conclui-se que o alimento líquido é o melhor meio de disponibilização da própolis para as abelhas *Apis mellifera*.

## Conservação de tomate (pós-colheita) submetido a diferentes concentrações de extrato alcoólico de própolis

**Edison A. Souza<sup>1</sup>, Thaís S. Bovi<sup>1</sup>, Fernanda S. Rita<sup>2</sup>, Ricardo de O. Orsi<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Alunos de Doutorado do curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil.

<sup>2</sup>Alunos de Graduação do curso de Zootecnia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho - UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil

<sup>3</sup>Docente do Departamento de Produção Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil

\*souzaedison@gmail.com

O Brasil é um dos maiores produtores de tomates frescos do mundo, sendo parte desta produção perdida, especialmente no pós-colheita. Esta perda é ocasionada, em parte, por fungos que crescem na superfície de frutos, inviabilizando-os. O controle de fungos pode ser realizado por meios químicos, físicos e biológicos; entretanto, a crescente demanda por alimentos seguros impulsionou a busca por métodos alternativos de controle, como a própolis. Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de extrato alcoólico de própolis (EAP) na conservação pós-colheita de tomate *Lycopersicon esculentum*. A própolis utilizada no experimento foi produzida por abelhas *Apis mellifera* africanizadas, alojadas em colmeias padrão Lagstroth, e colhida por meio do coletor de tela plástica. O EAP foi preparado na concentração de 30% (30g de própolis em 100 ml de álcool etílico à 70%). Foram utilizados 100 tomates, sendo 10 frutos para cada tratamento, em duplicata: T1 - controle (sem imersão); T2 - solução de água destilada + 1% de EAP; T3 - solução de água destilada +2% de EAP; T4 - solução de água destilada +5% de EAP; T5 - álcool etílico 70%. Os tomates de cada tratamento foram imersos nas diferentes concentrações durante 1 minuto e depois alocados em bancada à temperatura ambiente e abrigo de luz, por um período de 11 dias. Diariamente os seguintes parâmetros foram avaliados: perda de peso do fruto (%), cor e consistência. Os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey-Kramer para diferença entre médias. Não foram encontradas diferenças significativas nos parâmetros estudados, o que sugere, para as condições do presente estudo, que o EAP não contribuiu para a conservação pós-colheita do tomate *Lycopersicon esculentum*.

## Avaliação da qualidade e rotulagem do mel – adequação à nova legislação

**Ofélia Anjos<sup>2,3</sup> \* Diogo Serafim<sup>1</sup>, María Shantal Rodríguez<sup>3</sup>, María Carmen Seijo<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Instituto Politécnico de Castelo Branco, 6001-909 Castelo Branco, Portugal

<sup>2</sup>Centro de Estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, 1349-017 Lisboa, Portugal

<sup>3</sup>Faculdade de Ciencias. Campus As Lagoas, Universidade de Vigo, 32004, Ourense, España

\* ofelia@ipcb.pt

O rótulo é um dos primeiros elos de ligação entre o produto e o consumidor, permitindo a este efectuar escolhas mais conscientes, saudáveis e seguras. O rótulo deve fornecer as informações que permitam ao consumidor ter o melhor conhecimento do produto sempre de acordo com a legislação em vigor.

Neste estudo foi avaliada o grau de conformidade dos rótulos de acordo com o Regulamento (UE) n.º 1169/2011. O regulamento entrou em vigor em 13 de Dezembro de 2011, tornando-se aplicável a partir de 13 de Dezembro de 2014. O grau de conformidade dos rótulos em relação às alterações identificadas, foi efectuado recorrendo a uma tabela de verificação de conformidade dos produtos. Esta tabela foi construída com base nas alterações ou critérios a avaliar, e foi posteriormente aplicada a 25 rótulos de embalagens de mel adquiridos em grades superfícies no ano de 2013.

Os méis foram conservados nas embalagens de origem até serem analisados. Os méis em estudo tinham a indicação de serem multiflorais, montanha, rosmaninho, laranjeira, eucalipto e urze.

Foram ainda avaliados os seguintes parâmetros de qualidade: análise palinológica (qualitativa e quantitativa), humidade, condutividade eléctrica, cor, índice diastático, pH, HMF. Todas as determinações foram realizadas em duplicado.

Verifica-se uma pequena diversidade dos tipos de méis à venda nas grandes superfícies, comparativamente à riqueza nutricional e variabilidade deste produto.

Verificou-se que todas as amostras de méis estão dentro dos limites estabelecidos para os parâmetros físico-químicos analisados, no entanto, as suas características físico-químicas apresentam variabilidade considerável devido à variabilidade botânica das mesmas.

No caso de mel rotulado como mel de montanha foi comprovado que é frequente a presença do pólen de castanho e urze, que são elementos vegetais típicos em algumas áreas de montanha. Na grande maioria os méis indicados como monoflorais de determinada espécie encontravam-se em concordância com a análise palinológica efectuada. No entanto, verificou-se, que entre as amostras designadas como méis monoflorais, algumas não continham a quantidade de pólen suficiente para serem designadas como tal. Estas diferenças foram observadas em praticamente todas as amostras de eucalipto e numa amostra de laranjeira e outra de rosmaninho.

De todas as menções obrigatória a “Declaração nutricional” e a “Quantidade líquida” carecem de alteração de modo a poderem vir a cumprir a nova legislação.

## Separação de compostos fenólicos do extrato metanólico de propolis de Bornes por TLC

Vanessa B. Paula<sup>1\*</sup>, Luís G. Dias<sup>1</sup>, Letícia M. Estevinho<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CIMO, Centro de Investigação de Montanha, Instituto Politécnico de Bragança

\*vanessapaula@ipb.pt

O própolis é uma substância resinosa, pegajosa, obtida pelas abelhas a partir de exsudados de determinadas plantas, utilizada para reparar e proteger a colmeia contra infeções e insetos invasores, que não podem ser retirados. Esta substância apresenta uma cor que depende da sua proveniência floral e geográfica, que vai desde o amarelo claro ao castanho escuro, quase preto [1-3]. O presente trabalho tem como objetivo a utilização da técnica “thin layer chromatography” (TLC) bidimensional para separar os compostos fenólicos do propólis (ácidos fenólicos e flavonóides) de forma a, posteriormente, obter um perfil químico geral de uma amostra de própolis. O extrato de própolis de Bornes foi analisado por TLC (sílica gel 60 com fluorescência a 254 nm) usando a técnica bidimensional, utilizando para a primeira dimensão (1D) clorofórmio, metanol, ácido fórmico (88;7;5 v/v) e para a segunda dimensão (2D) n-hexano, acetato de etilo, ácido acético (62;28;10 v/v), com o objetivo de obter uma primeira separação de compostos fenólicos.

Os resultados obtidos pelo método analítico de TLC mostram que é possível separar 26 manchas, podendo em alguns dos casos serem misturas de compostos.

A separação dos compostos fenólicos na placa de TLC foi visualizada usando reagentes ou radiação UV 254 nm. Os reagentes usados na visualização das manchas referentes aos compostos fenólicos separados na placa de TLC, foram: cloreto de alumínio, cloreto de ferro, Folin-Ciocalteu, DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e vanilina.

Todos os reagentes utilizados para a visualização de compostos fenólicos na metodologia de TLC reagiram com as manchas separadas. Cada mancha mostrou um comportamento diferente de reação com os distintos reagentes, sendo possível definir as manchas com cores mais intensas na placa de TLC que se traduz numa maior concentração de compostos fenólicos. O reagente cloreto de alumínio foi o que permitiu uma maior visualização de manchas, para além das 26 manchas facilmente visíveis na placa de TLC com a utilização dos outros reagentes. O Folin-Ciocalteu e DPPH além de permitirem visualizar as manchas separadas por TLC, também permitiram verificar quais as que detêm atividade antioxidante. Estes dois reagentes, vão reagir com os compostos, presentes nas manchas que possuem atividade antioxidante, resultando visualmente numa coloração amarela.

### Referências:

- [1] S.R. Lustosa, A.B. Galindo, L.C.C. Nunes, K.P. Randau, P.J.R. Neto, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **18**, 447-454 (2008).
- [2] G.A. Burdock, *Food and Chemical Toxicology* **36**, 347-363 (1998).
- [3] M.C. Marcucci, *Química Nova*, **19**, 529-536 (1996).



## Avaliação da capacidade antioxidante do mel: estudos de validação do método FRAP

Nair Alua<sup>1</sup>, Maria Celeste C. Serra<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Estudos de Engenharia Química, Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, Rua  
Conselheiro Emídio Navarro, 1 1959-007 Lisboa

\*mcserra@deq.isel.ipl.pt

Muitos estudos têm sido realizados nos últimos anos sobre as propriedades antioxidantes de produtos naturais [1]. A intensa pesquisa tem possibilitado um maior conhecimento sobre a função de compostos bioativos nos produtos naturais, em resposta às actuais tendências dos consumidores e da indústria alimentar em procurar alimentos saudáveis.

Devido aos seus efeitos benéficos na saúde, o mel tem sido alvo de diversos estudos que demonstraram a presença de compostos bioativos responsáveis pelas propriedades antioxidantes apresentadas pelo mel [2].

No sentido de avaliar de forma adequada a actividade antioxidante do mel é desejável aplicar métodos de análise robustos, fiáveis e devidamente validados.

A validação de um método de análise tem como principal objectivo o demonstrar a sua fiabilidade para a determinação do teor de analito numa determinada matriz.

Na literatura existem vários métodos para avaliação da capacidade antioxidante sendo usado com alguma frequência o ensaio FRAP (*ferric reducing ability of plasma*), no qual são quantificados os compostos antioxidantes com capacidade para promoverem a redução do ião  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ . O doseamento é efectuado através de medidas de absorvância a 593 nm devido à formação do complexo azul de  $\text{Fe}^{2+}$ -tripiridiltriazina e recorrendo a curvas de calibração com soluções padrão de Trolox ou de sulfato de ferro (II) [3].

Neste trabalho foram determinados parâmetros de validação do ensaio FRAP, nomeadamente, foi definida a gama de trabalho, avaliada a linearidade das curvas de calibração, determinada a sensibilidade e os valores dos limites de detecção e quantificação, bem como a repetibilidade, a precisão intermédia e as taxas de recuperação do método [4, 5].

### Referências:

- [1] J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon, *Antioxidants in food: Practical applications*, Woodhead Publishing Limited, England, Cambridge (2001).
- [2] A. Meda, C. Lamien, M. Romito, J. Millogo, O. Nacoulma, *Food Chemistry*, **91**, 571 (2005).
- [3] I. F. Benzie, J. J. Strain, *Analytical Biochemistry*, **230**, 70 (1996).
- [4] D.L. Massart, B.G.M. Vandeginste, L.M.C. Buydens, S. De Jong, P.J. Lewi, J. Smeyers-Verbeke, *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics*, Elsevier, Holland Amsterdam (1997).
- [5] Guia Relacre 13, Instituto Português da Qualidade (2000).

## Apicultura em modo de produção biológico em Portugal: construir o futuro

**Paula Cabo<sup>1\*</sup>; Luís G. Dias<sup>1</sup>; Miguel Vilas-Boas<sup>1</sup>; Mário Gomes<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>CIMO - Centro de Investigação de Montanha e Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança

<sup>2</sup>FNAP - Federação Nacional dos Apicultores de Portugal

\* paulacabo@ipb.pt

A apicultura é uma atividade crucial para o futuro da atividade agrícola, e do mundo rural, em geral. É, não só uma fonte importante de rendimento e de emprego no mundo rural mas, também desempenha um papel fundamental para a natureza e a segurança alimentar no processo de polinização de espécies nativas e cultivos agrícolas.

Contudo, o uso de agroquímicos, a agricultura intensiva e de monocultura, entre outros fatores, têm vindo a afetar a sobrevivência das abelhas e de outros insetos silvestres, sendo que os sinais de alerta para a elevada mortalidade destes pequenos polinizadores se fazem sentir um pouco por todo mundo.

A fileira apícola nacional tem realizado um esforço crescente no sentido de aumentar a sua competitividade, através da modernização das explorações apícolas, apostando na qualidade e diversificação das produções (mel biológico, pólen, cera, própolis) permitindo adaptar o setor às crescentes exigências do mercado. Contudo, apesar das vantagens competitivas do modo de produção biológico (MPB), a apicultura em MPB está ainda aquém da realidade de outros países europeus, ou mesmo quando comparada com a percentagem de área agrícola nacional já convertida ao MPB.

Este trabalho pretende contribuir para o desenvolvimento e valorização da apicultura em MPB em Portugal. Para tal, procura-se conhecer a atual situação da atividade e suas potencialidades, por forma a esboçar estratégias para o seu futuro.

Na sua base está o projeto BIOIMPACT, que visa identificar os motivos que atualmente restringem a expansão da apicultura em MPB, baseando-se na recolha da experiência dos atuais operadores, através de questionários individuais aplicados diretamente aos apicultores certificados e organismos certificadores.

A informação obtida serviu de suporte à elaboração da matriz de avaliação estratégica da atividade (SWOT) onde são evidenciadas as forças e fraquezas internas, assim como as oportunidades e ameaças determinadas pela envolvente externa.

A avaliação estratégica da fileira de produção mostra que o crescimento da apicultura em MPB se tem baseado numa estratégia de crescimento concentrado, sendo o mel em MPB a principal fonte de receitas da exploração. A sinergia resultante da estratégia de diferenciação com a estratégia de qualidade tem permitido valorizar esta produção tradicional. Contudo, os resultados mostram que a diversificação concêntrica poderá revelar-se uma estratégia atrativa que permite reduzir o risco da exploração através da participação em atividades nas quais a tecnologia, mercado e produtos são similares. Esta estratégia permite a maximização do rendimento da atividade apícola pela aposta na diversificação de receitas particularmente, através da produção e comercialização de outros produtos da colmeia e transformados, como cera, própolis ou pólen.

## Identificação de méis monoflorais usando uma língua electrónica e metodologias de similaridade

Mara E.B.C. Sousa<sup>1\*</sup>, Luís G. Dias<sup>1</sup>, Ana C.A. Veloso<sup>2,3</sup>, Leticia Estevinho<sup>1</sup>, António M. Peres<sup>4</sup>, Adélio A.M. Machado<sup>5</sup>

<sup>1</sup>CIMO, ESA, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal

<sup>2</sup>Instituto Politécnico de Coimbra, ISEC, DEQB, Coimbra, Portugal

<sup>3</sup>CEB, University of Minho, Braga, Portugal

<sup>4</sup>LSRE, ESA, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal

<sup>5</sup>LAQUIPAI, Departamento de Química, Universidade do Porto, Porto, Portugal

\*mebdias@gmail.com

O preço do mel comercial depende da sua origem floral bem como da sua cor. Em geral, o consumidor prefere méis claros [1,2] e monoflorais, estando disposto a pagar um preço mais elevado. Assim sendo, torna-se importante o desenvolvimento de técnicas analíticas rápidas e simples capazes de garantir a conformidade da informação polínica constante do rótulo. Neste trabalho é aplicada uma Língua Electrónica potenciométrica constituída por sensores de sensibilidade cruzada na análise de méis para a identificação e classificação de méis monoflorais. Para tal, pretende-se mostrar uma aplicação prática e direta deste sistema baseada na utilização de metodologias multivariadas de similaridade [3] para o tratamento de dados analíticos. Esta metodologia baseia-se no uso de méis monoflorais com elevado conteúdo do pólen predominante como padrões comparativos para o estabelecimento de um perfil típico de sinais potenciométricos (ver figura) para cada tipo de mel, nomeadamente *Lavandula* sp. e *Castanea* sp..

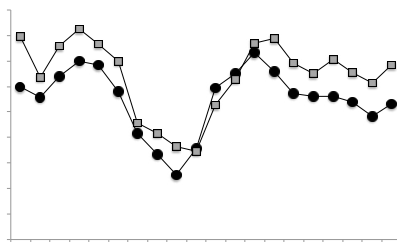


Figura - Perfil típico de sinais potenciométricos para o mel monofloral de *Lavandula* sp. e *Castanea* sp.

### Referências:

- [1] M.L. Al, D. Daniel, A. Moise, O. Bobis, L. Laslo, S. Bogdanov, *Food Chemistry*, **112**, 863 (2009).
- [2] M. Viuda-Martos, Y. Ruiz-Navajas, J.M. Zaldivar-Cruz, V. Kuri, J. Fernández-López, Á.A. Carbonell-Barrachina, J.Á. Pérez-Álvarez, *International Journal of Food Science and Technology*, **45**, 1111 (2010).
- [3] D. Borcard, F. Gillet, P. Legendre, *Numerical Ecology with R*, Springer, 2011

## Relação entre a cor e o perfil polínico de méis monoflorais usando árvores de decisão

**Mara E.B.C. Sousa<sup>1\*</sup>, Luís G. Dias<sup>1</sup>, Ana C.A. Veloso<sup>2,3</sup>, António M. Peres<sup>4</sup>, Adélio A.M. Machado<sup>5</sup>, Letícia Estevinho<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>CIMO, ESA, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal

<sup>2</sup>Instituto Politécnico de Coimbra, ISEC, DEQB, Coimbra, Portugal

<sup>3</sup>CEB, University of Minho, Braga, Portugal

<sup>4</sup>LSRE, ESA, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal

<sup>5</sup>LAQUIPAI, Departamento de Química, Universidade do Porto, Porto, Portugal

\*mebdias@gmail.com

Neste trabalho pretendeu-se recorrer a uma metodologia estatística multivariada - Árvore de decisão [1], para estabelecer um perfil polínico típico associado à cor de cada mel monofloral. Com efeito, os dados experimentais mostram que um mesmo mel monofloral pode apresentar uma grande variabilidade de cor (desde branco claro até âmbar ou âmbar até âmbar escuro) o que pode ser atribuído aos conteúdos relativos dos pólenes não predominantes. A título de exemplo, são estudados méis monoflorais de *Lavandula* sp. e de *Castanea* sp., sendo a cor avaliada de acordo com o método espectrofotométrico e definindo-a na escala milímetros de Pfund [2] e a origem floral (espectro polínico) definida através de metodologia microscópica referida por Louveaux *et al.* [3].

### Referências:

- [1] Graham Williams, Data Mining with Rattle and R, The Art of Excavating Data for Knowledge Discovery, Springer, 2011.
- [2] I.C.F.R. Ferreira, E. Aires, J.C.M. Barreira, L.M. Estevinho, *Food Chemistry*, **114**, 1438 (2009).
- [3] J. Louveaux, A. Maurizio, G. Vorwohl, *Bee World*, **59**, 139 (1978).

## Atividade antioxidante de decocções e infusões de flores de castanheiro, uma árvore de grande interesse apícola

**Márcio Carochio<sup>1,2</sup>, Albino Bento<sup>1</sup>, Patricia Morales<sup>2</sup>, Isabel C.F.R. Ferreira<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO-ESA), Instituto Politécnico de Bragança, Portugal

<sup>2</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología II, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, España

\*iferreira@ipb.pt

O mel tem sido usado pelo homem como alimento e medicamento desde tempos imemoriais. A importância deste recurso apícola intensificou-se quando o seu potencial medicinal foi provado pela comunidade científica [1]. Numa altura em que o interesse dos consumidores por alimentos funcionais é cada vez maior, torna-se essencial determinar o potencial bioativo, não só deste recurso natural, mas também das flores que lhe dão origem. O nosso grupo de investigação tem estudado o potencial antioxidante de extratos metanólicos de diferentes flores, nomeadamente as de castanheiro [2]. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade antioxidante de infusões e decocções de duas cultivares Portuguesas muito apreciadas, *Longal* e a *Judia*, visto constituírem as formas de consumo tradicional mais disseminado. De facto, estas infusões e decocções são empregues sobretudo contra tosse, diarreias e níveis altos de colesterol, entre outros.

O potencial antioxidante foi obtido pelos ensaios da atividade captadora de radicais 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH), poder redutor, inibição da descoloração do  $\beta$ -caroteno e inibição da peroxidação lipídica pela diminuição da formação de espécies reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) em homogeneizados cerebrais. A decocção de flores de *Judia* apresentou a maior atividade antioxidante (menores valores de  $EC_{50}$ ; entre 38 e 99  $\mu\text{g/mL}$ ), destacando-se bastante das outras amostras. No entanto, ficou bem evidente o grande poder antioxidante das decocções e infusões das flores de castanheiro, em comparação com outras flores já estudadas [3].

Estes resultados trazem evidências científicas de que o poder antioxidante do mel, divulgado em diferentes estudos incluindo do nosso grupo de investigação [4], pode estar relacionado com as flores que lhe dão origem.

### Referências:

- [1] J.M. Alvares-Suarez, S. Tulipani, S. Romandini, E. Bertoli, M. Battino. *Mediterranean Journal of Nutritional Metabolism*, **3**, 15 (2009).
- [2] L. Barros, S. Oliveira, A.M. Carvalho, I.C.F.R. Ferreira. *Industrial Crops and Products*, **32**, 572 (2010).
- [3] L. Barros, S. Oliveira, A.M. Carvalho, I.C.F.R. Ferreira. *Industrial Crops and Products*, **32**, 527 (2010).
- [4] C. Pereira, L. Barros, M. Vilas-Boas, I.C.F.R. Ferreira. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **64**, 230 (2013).

### Agradecimentos:

Projeto PRODER nº 46577- PlantLact; Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT)- CIMO (PEst-OE/AGR/UI0690/2011).



## Perfil em ácidos orgânicos e açúcares livres de decocções e infusões de flores de castanheiro

Márcio Carochio<sup>1,2</sup>, Lillian Barros<sup>1</sup>, Celestino Santos-Buelga<sup>3</sup>, Albino Bento<sup>1</sup>, Patricia Morales<sup>2</sup>, Isabel C.F.R. Ferreira<sup>\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO-ESA), Instituto Politécnico de Bragança, Portugal

<sup>2</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología II, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, España

<sup>3</sup>GIP-USAL, Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, España

\*iferreira@ipb.pt

As características de um mel são definidas pelas flores que lhe dão origem, sendo que os aromas, sabores e texturas do mel provêm de compostos presentes nas flores, que depois de submetidos a processos de secagem e transformação por parte das abelhas, dão origem a méis de diferentes tipos [1]. Assim, é essencial caracterizar química e bioquimicamente as flores que dão origem ao mel, de forma a conhecer as potencialidades deste, e entender as transformações que os compostos sofrem desde que são recolhidos na flor. O nosso grupo de investigação já caracterizou várias flores e frutos de Trás-os-Montes, e outras regiões de Portugal, tanto a nível bioativo com nutricional [2,3]. Neste trabalho, as flores de duas cultivares de castanheiro economicamente importantes, *Longal* e *Judia*, foram submetidas a extrações por decocção e infusão com posterior liofilização das soluções e finalmente determinação do seu perfil em açúcares livres e ácidos orgânicos por cromatografia líquida. Os açúcares livres foram detetados recorrendo a cromatografia líquida de alta eficiência, acoplado a um detetor de índice de refração e uma fase móvel composta por acetoneitrilo/água (70%/30%). Os ácidos orgânicos foram detetados por cromatografia líquida ultra rápida, acoplado a um detetor de diólos e uma fase móvel composta por uma solução de ácido sulfúrico (3.6 mM).

Em relação aos açúcares, foram detetados dois monossacáridos, a frutose e a glucose, e apenas um dissacárido, a sacarose, sendo que o açúcar mais abundante em todas as amostras foi a frutose. No que concerne aos ácidos orgânicos, foram detetados quatro compostos, nomeadamente o ácido oxálico, ácido quínico, ácido málico e ácido shikímico. As decocções apresentaram valores maiores tanto de açúcares como de ácidos orgânicos, contudo, enquanto que a decocção de *Longal* apresentou um valor mais elevado de açúcares, foi a decocção de *Judia* a conter uma maior concentração de ácidos orgânicos. Pela primeira vez, o conteúdo em açúcares livres e ácidos orgânicos de decocções e infusões de flor de castanheiro foram descritas, contribuindo para a caracterização de méis provenientes desta planta.

### Referências:

- [1] G. Scandurra, G. Tripodi, A. Verzera, *Journal of Food Engineering*, **119**, 738 (2013).
- [2] L. Barros, A.M. Carvalho, I.C.F.R. Ferreira, *Food and Chemical Toxicology*, **48**, 1466 (2010).
- [3] L. Barros, A.M. Carvalho, I.C.F.R. Ferreira, *Phytochemical Analysis*, **22**, 181 (2011).

### Agradecimentos:

Projeto PRODER nº 46577- PlantLact; Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT)- CIMO (PEst-OE/AGR/UI0690/2011) e contrato de L. Barros (Compromisso para a Ciência 2008).

## Produção de apitoxina em *Apis mellifera* L. e expressão do gene defensina relacionado ao estresse

**Ricardo de O. Orsi<sup>1</sup>, Melina S. Modanesi<sup>1</sup>, Samir M. Kadri<sup>1</sup>, Nabor Veiga<sup>1</sup>, Paulo E. M. Ribolla<sup>2</sup>, Diego P. Alonso<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Núcleo de Ensino, Ciência e Tecnologia em Apicultura Racional (NECTAR), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, UNESP Botucatu, São Paulo, Brasil.

<sup>2</sup>Instituto de Biociências - Departamento de Parasitologia - Universidade Estadual Paulista, UNESP Botucatu, São Paulo, Brasil.

\*orsi@fmvz.unesp.br

A colheita de apitoxina pode ser realizada por meio de coletores elétricos colocados na entrada da colmeia, o qual contém filamentos que conduzem corrente elétrica, promovendo desta forma a contração da musculatura acessória e consequente liberação de veneno pela abelha, sem ocasionar sua morte. Entretanto, ainda não é conhecido como esse manejo interfere com a colmeia. A colheita pode ocasionar alterações comportamentais, interferindo com as atividades de rotina e promovendo o aparecimento de estresse agudo ou crônico. Desta forma, os objetivos da presente pesquisa foi determinar o melhor período de colheita (manhã ou tarde) e tempo (30 ou 60 minutos) na produção de apitoxina, bem como avaliar o estresse deste manejo por meio da expressão do gene defensina, relacionado ao estresse. Cinco colmeias de abelhas *Apis mellifera* africanizadas foram usadas. A colheita de veneno ocorreu três vezes por semana, de acordo com os seguintes tratamentos: T1: manhã/30minutos; T2: manhã/60minutos; T3: tarde/30minutos e T4: tarde/60minutos. A colheita de apitoxina foi realizada com coletor elétrico. O nível de estresse foi monitorado pela expressão do gene defensina, usando o gene actina como controle, em abelhas campeiras e internas do ninho. Os resultados foram avaliados por ANOVA seguida do teste de Tukey-Kramer ( $P \leq 0,05$ ). A maior produção de apitoxina foi observada no T2 ( $49,1 \pm 13,0$  mg), o qual diferiu significativamente dos outros tratamentos ( $33,7 \pm 13,0$ ;  $24,6 \pm 10,0$  e  $24,9 \pm 6,0$  mg, to T1, T3 e T4, respectivamente), resultado esse devido talvez pelo maior fluxo de abelhas forrageiras no coletor. A quantificação relativa do gene defensina em abelhas campeiras não mostrou diferença significativa entre tratamentos. Entretanto, observou-se que as abelhas internas do ninho apresentaram os maiores níveis de defensina no T3 ( $2,97 \pm 1,65$ ) e os menores no T2 ( $0,16 \pm 0,17$ ). Nenhuma diferença foi observada entre as abelhas campeiras e internas, para todos os tratamentos. Esta maior expressão do gene defensina nas abelhas internas poderia estar relacionada com o aumento dos feromônios de alarme liberados no momento da extração do veneno por meio do estímulo elétrico (isopentilacetato e 2 heptanona), promovendo um estado de alerta nas demais abelhas para proteção da colmeia, aumentando assim o desconforto e possivelmente o estresse. Pode-se concluir que a maior produção de veneno ocorreu no período da manhã, com duração de uma hora, apresentando também menor expressão de gene defensina.

### Agradecimentos:

Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Processo número 2012/23466-2

## Qualidade do mel da Guiné-Bissau

**Mélissa Lopes<sup>1</sup>, Soraia Falcão<sup>1</sup>, Miguel Vilas-Boas<sup>\*</sup>**

<sup>1</sup>CIMO - Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal

\*mvboas@ipb.pt

O mel é uma substância açucarada natural produzida pelas abelhas a partir do néctar de flores, de secreções de partes vivas de plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas sobre as partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, depositam, desidratam, armazenam e deixam no favo de mel para amadurecer. [1]

A origem botânica e geográfica do mel é uma questão importante em termos de qualidade e segurança alimentar e reflete-se na composição química do mel. [2] Neste projeto pretende-se efetuar o primeiro estudo sobre a avaliação da qualidade de mel proveniente da região leste da Guiné-Bissau, um país subdesenvolvido situado na Costa Ocidental de África, onde a apicultura tem como principal função promover o desenvolvimento rural mas também contribuir para a melhoria das condições nutricionais da população. A aplicação de novas tecnologias de produção que garantam a segurança dos alimentos e a obtenção de produtos de qualidade, em particular o mel, é um passo basilar no seu desenvolvimento. Os trabalhos decorrem em 11 amostras recolhidas em seis diferentes regiões nos anos de 2010 a 2013.

O estudo é efetuado segundo os métodos de análise de parâmetros físico-químicos definidos pela comissão internacional do mel, IHC (Harmonised Methods of the International Honey Commission). Os parâmetros de qualidade avaliados são a cor, a humidade, condutividade elétrica, pH, acidez livre, lactonas e acidez total, teor em hidroximetilfurfural e índice diastásico.

Os resultados evidenciaram um mel com uma predominância cromática de âmbar escuro, com teores de humidade compreendidos entre 16% e 20%. Para a condutividade elétrica os valores apresentaram uma elevada variabilidade entre os 336 e aos 856  $\mu\text{scm}^{-1}$ , verificando-se que algumas amostras excedem os valores referenciados no codex para a qualidade do mel de néctar. Os teores em HMF (hidroximetilfurfural, um dos parâmetros mais significativos na avaliação da qualidade do mel), apresentaram também uma elevada oscilação, atingindo mesmo uma das amostras um valor acima de 80  $\text{mgkg}^{-1}$ , o valor máximo recomendado para o mel de regiões tropicais). Os resultados para a acidez livre determinada no ponto de equivalência variou entre os 16 e 45  $\text{meqkg}^{-1}$ , enquanto a determinação a pH 8,3 os valores subiram para 22 a 61  $\text{meqkg}^{-1}$ . Estes valores elevados, associados ao elevado teor em HMF sugerem que algumas das amostras apresentem já um estado significativo de fermentação, recomendando-se por isso uma melhoria nas condições de produção de mel, para que se possa atingir os padrões de qualidade internacionais.

### Referências:

- [1] Codex Alimentarius Committee on Sugars. Codex standard 12, Revised Codex Standard for Honey. Standards and Standard Methods, 11, 1-7 (2011).
- [2] J. Wang, Qing Li X., *Advances in Food and Nutrition Research*, **62**, 89-137 (2011).

## Estudio microbiológico de mieles españolas acogidas a marcas de calidad

Patricia Combarros-Fuertes<sup>1\*</sup>, José M. Castro<sup>1</sup>, M.Eugenia Tornadizo<sup>1</sup>, Leticia M. Estevinho<sup>2</sup>, José M. Fresno<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de León. España.

<sup>2</sup>CIMO, Centro de Investigação de Montanha, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal.

\*pcomf@unileon.es

Actualmente la legislación europea no incluye especificaciones sobre higiene o contaminación microbiana de la miel y la mayoría de los estudios microbiológicos se centran en la detección de *Clostridium botulinum*. Teniendo en cuenta que existen numerosas fuentes de contaminación de la miel, desde los granos de polen, pasando por el intestino de las abejas, hasta los manipuladores, resulta importante evaluar su calidad higiénica y seguridad microbiológica.

Se seleccionaron seis tipos de miel de diferentes orígenes florales y geográficos acogidas a marcas de calidad y dos muestras de miel ecológica durante dos cosechas consecutivas 2010 y 2011. En total fueron analizadas 15 muestras de miel. 10 g de cada una de las muestras fueron pesados asépticamente y homogeneizados en 90 mL de agua peptonada estéril (dilución 10-1) en un homogeneizador haciendo diluciones seriadas con el mismo diluyente. Se realizaron recuentos de microorganismos aerobios mesófilos en PCA (30°C, 48 h); mohos y levaduras siguiendo el protocolo de ISO 21527-2:2008; *Staphylococcus aureus* en Baird-Parker agar con yema de huevo, telurito y una solución de sulfadimidina (37°C, 24 h); esporas de clostridios sulfito reductores para lo cual se tomaron alícuotas de 10, 5, 1 y 0,1 mL de la suspensión inicial, se trataron térmicamente en tubos de ensayo a 80°C durante 5 minutos y se cubrieron con agar SPS (37°C, 5 días); coliformes totales y *Escherichia coli* mediante el uso de la técnica del número más probable según el método oficial de la AOAC 2005.03 y detección de *Salmonella* sp. según el método Oficial AOAC 989.13. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado

Ocho de las muestras estudiadas no llegaron al límite de detección para microorganismos aerobios mesófilos y para aquellas en las que se observó crecimiento microbiano, los recuentos fueron bajos, oscilando entre  $13,35 \pm 5,8$  y  $339,4 \pm 67,0$ . En el caso de mohos y levaduras ninguna de las muestras llegó al límite de detección. Los bajos recuentos observados son indicativos de un adecuado manejo apícola y unas buenas prácticas de extracción y procesamiento de la miel. En ninguna de las muestras se llegó al límite de detección para *Staphylococcus aureus* y fueron negativas para clostridios sulfito reductores y *Salmonella* spp. Los recuentos estimados para coliformes totales oscilaron entre  $33,3 \pm 23,1$  y  $140 \pm 20$  ufc /g sin llegar a encontrar *E.coli* en ninguna de ellas con lo que los coliformes detectados en las muestras de miel se pueden asociar a especies cuyo origen en la miel es ambiental.

En base a los resultados obtenidos podemos concluir que todas las muestras estudiadas fueron manipuladas bajo óptimas condiciones higiénicas y resultan microbiológicamente seguras para el consumidor.

## Estudio palinológico de mieles españolas acogidas a marcas de calidad

Patricia Combarros-Fuertes<sup>1\*</sup>, Rosa M. Valencia-Barrera<sup>2</sup>, Leticia M. Estevinho<sup>3</sup>, José M. Fresno<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de León. España.

<sup>2</sup> Departamento de Biodiversidad y Gestión Ambiental. Facultad de Biología. Universidad de León. León, España.

<sup>3</sup>CIMO, Centro de Investigação de Montanha, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal.

\*pcomf@unileon.es

Muchas de las propiedades bioactivas que presenta la miel han sido relacionadas con su origen botánico por lo que su conocimiento es muy importante. Aunque se están desarrollando métodos más sencillos y rápidos, el análisis palinológico continúa siendo esencial para determinar el origen floral de la miel lo que, por otro lado, permite atribuirle un mayor valor al producto.

Se determinó el origen floral de seis tipos de miel acogidas a marcas de calidad y dos muestras de miel ecológica, durante dos cosechas consecutivas 2010 y 2011 analizando un total de 15 muestras. El método utilizado para la preparación de las muestras fue el recomendado por la Comisión Internacional de Botánica Apícola (ICBB) [1]. Se realizó un análisis cualitativo examinando cada una de las preparaciones al microscopio óptico a 400 y 1000 aumentos. Se identificaron por término medio 650 granos de polen en cada muestra de miel utilizando diversas claves y bibliografía [2,3] así como la palinoteca del Departamento de Biodiversidad y Gestión Ambiental de la Universidad de León.

Se identificaron 92 tipos polínicos pertenecientes a 36 familias botánicas. En torno al 73% del polen identificado perteneció a plantas nectaríferas mientras que el 27% restante procedió de plantas políneas o productoras de polen y mielatos. En todas las muestras estudiadas se encontró el tipo polínico *Cytisus scoparius*. Otros tipos polínicos que se presentaron con frecuencia fueron *Rubus ulmifolius* (encontrado en el 93% de las muestras), *Castanea sativa* (87%), *Echium vulgare* y *Crataegus monogyna* (80%) y *Prunus spinosa* (73%). El número de tipos polínicos presentes en cada muestra varió entre 13 y 47, siendo esta variabilidad el resultado de la vegetación existente en las diferentes zonas geográficas y de la preferencia de las abejas por algunas especies botánicas. Aunque todas las mieles fueron comercializadas como uniflorales, solo ocho de las quince muestras de miel estudiadas fueron catalogadas como tal, el resto no alcanzó los contenidos mínimos en polen como para ser incluidas dentro de este grupo y fueron clasificadas como mieles multiflorales. Actualmente solo las legislaciones específicas para marcas de calidad contemplan un apartado relativo a los contenidos mínimos en polen necesarios para conseguir la unifloralidad.

### Referencias:

- [1] J. Louveaux, A. Maurizio, G. Vorwohl, *Bee World*, **59**, 4, 139-157 (1978).
- [2] P.D. Moore, J.A. Webb, M.E. Collinson, *Pollen analysis*, Blackwell Scientific Publications, Oxford (1991).
- [3] M. Hesse, H. Halbritter, M. Weber, R. Buchner, A. Frosch-Radivo, S. Ulrich, *Pollen terminology: An illustrated handbook*. Springer-Verlag, Wien (2009).



## Evaluación de mieles uniflorales raras colectadas en varias regiones de Portugal

Rubén A. Ortega<sup>1,\*</sup>, Luís G. Dias<sup>1</sup>, Luís M. Cunha<sup>2</sup>, Leticia Estevinho<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología e Biotecnología, Instituto Politécnico de Bragança. CIMO, Centro de Investigação de Montanha.

<sup>2</sup>Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação, Universidade do Porto

\*raortega@ipb.pt

La composición química de la miel depende básicamente del origen botánico y de la composición del néctar de las plantas o secreciones productoras de miel <sup>[1]</sup>. Cada vez más, aumenta el interés de los consumidores por acceder a mieles monoflorales <sup>[2]</sup>. En este sentido es importante garantizar la calidad de los productos a partir de su autenticidad, seguridad y atributos sensoriales.

Este trabajo hace parte de un proyecto de caracterización de mieles de Portugal que se está desarrollando al interior del grupo de investigación. Actualmente, la literatura no reporta información sobre la composición química de mieles Portuguesas de néctar poco comunes. El objetivo es caracterizar las propiedades fisicoquímicas de cuatro mieles monoflorales raras: Poejo (*Mentha pulegium*), Tomilho (*Thymus* sp.), Medronheiro (*Arbutus unedo*), Alfarrobeira (*Ceratonia siliqua*) producidas en diferentes regiones de Portugal y compararlas con las encontradas en un tipo de miel ampliamente estudiada, como Castanheiro (*Castanea sativa*). Además, algunas de ellas presentan atributos organolépticos especiales, que podrían llegar a jugar un rol importante al momento de su comercialización y exportación.

Las muestras de miel estudiadas presentan contenidos de humedad por debajo de lo estipulado en la legislación <sup>[3]</sup> indicando buena predisposición a su conservación. Se caracterizaron por tener valores de color menores a 100 mmPFund que permiten clasificarlas como mieles claras. Cumplen con los requerimientos de acidez libre y azúcares reductores. Las mieles poejo y medronheiro exceden los límites de HMF e índice diastásico, sugiriendo que no son mieles reciente producción o pudiendo haber sido calentadas. Se detectó la presencia de fenoles y flavonoides, principalmente en poejo y medronheiro. En general, no hay grandes diferencias entre los parámetros registrados para la miel Castanheiro y las especies de interés.

### Referencias:

- [1] A. Bentabol Manzanares, Z. Hernández García, B. Rodríguez Galdón, E. Rodríguez Rodríguez, C. Díaz Romero, *LWT - Food Science and Technology*, **55**, 572-578 (2014).
- [2] E. de la Fuente, M. L. Sanz, I. Martínez-Castro, J. Sanz, A. I. Ruiz-Matute, *Food Chemistry*, **105**, 84-93 (2007).
- [3] Codex Alimentarius Standard in *Revised Codex Standard for Honey*, Vol. Codex STAN 12-1981. (Ed. C. A. Commission.) (2001).

## Caracterização da composição em açúcares do mel da região de Castelo Branco

Paulo Antunes<sup>1</sup>, Mafalda Resende<sup>1</sup>, Ofélia Anjos<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup>CATAA - Associação Centro Apoio Tecnológico Agro-Alimentar de Castelo Branco

<sup>2</sup>Instituto Politécnico de Castelo Branco, Escola Superior Agrária, Portugal

<sup>3</sup>Centro de Estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Portugal

\*ofelia@ipcb.pt

Este trabalho teve como objectivo caracterizar a composição em açúcares dos méis da região de Castelo Branco. Para o efeito recolheram-se 13 amostras de mel em três anos consecutivos (2010, 2011 e 2012) nos mesmos apiários, totalizando um total de 36 amostras.

A concentração em açúcares nas amostras de mel foi analisada por cromatografia de troca aniónica com detecção electroquímica no modo de detecção amperométrica pulsada integrada (HPAEC-IPAD). Foram utilizados para identificar e quantificar os componentes individuais de açúcar nas amostras de mel soluções padrão de glucose, frutose, sacarose, trealose, melezitose, turanose e maltose.

As concentrações de frutose no mel analisado foram superiores à de glicose, com um valor médio de 26% e 37% respectivamente para a glicose e frutose. Os valores dos diferentes açúcares analisados por ano de amostragem estão registados na Tabela 1.

**Tabela 1** - Valor médio e desvio padrão da concentração dos diferentes açúcares no mel observada nas diferentes amostras da região de Castelo Branco.

açúcar	2010	2011	2012
Trealose (g/100g)	0.01±0.03	0.04±0.09	nd
Glucose (g/100g)	26.23±1.55	25.83±2.95	26.76±2.51
Frutose (g/100g)	37.52±1.81	38.84±3.16	35.54±2.23
Sacarose (g/100g)	1.01±0.10*	1.00±0.10*	nd
Melezitose (g/100g)	1.63±0.70	1.71±0.58	nd
Turanose (g/100g)	2.37±0.29	2.42±0.26	na
Maltose (g/100g)	1.70±0.46	1.77±0.57	na
Frutose+Glucose (g/100g)	64.33±2.25	65.10±2.43	63.29±2.04
Frutose/Glucose	1.43±0.10	1.42±0.29	1.35±0.13

\*médias apenas das amostras com valores acima do limite de quantificação;

nd -valores inferiores ao limite de quantificação; na - não analisado

Verifica-se que os valores observados estão dentro das gamas de valores observados por outros autores para méis portugueses [1], no entanto, variam numa faixa mais estreita e com valores característicos dos méis monoflorais de rosmaninho.

Pela Análise em componentes principais verificou-se uma constância na composição dos açúcares em anos consecutivos recolhidos em diferentes apiários, reforçando a ideia de que as características dos méis da região em análise se mantêm constantes no que se refere à sua composição em açúcares.

### Referências:

- [1] E. Mendes, E.B. Proença, I.M. Ferreira and M.A. Ferreira, *Carbohydrate Polymers*, **37**, 219-223 (1998).

## Caraterização da atividade antitumoral e antiangiogénica do propolis português usando modelos *in vitro* e *in vivo*

Ricardo Silva-Carvalho<sup>1,2</sup>, Vera Miranda-Gonçalves<sup>1,2</sup>, Ana M. Ferreira<sup>3</sup>, Susana M. Cardoso<sup>4</sup>, Abílio J.F.N. Sobral<sup>5</sup>, Cristina Almeida-Aguiar<sup>6</sup> e Fátima Baltazar<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciências da Vida e Saúde (ICVS), Escola de Ciências da Saúde, Universidade do Minho, Braga, Portugal;

<sup>2</sup>ICVS/3B's - Laboratório Associado, Braga/Guimarães, Portugal;

<sup>3</sup>Centro de Química de Vila Real (CQVR), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal;

<sup>4</sup>CERNAS, Escola de Agricultura, Instituto politécnico de Coimbra, Bencanta, 3045- 601 Coimbra, Portugal;

<sup>5</sup>Departamento de Química, Universidade de Coimbra, 3004-353 Coimbra, Portugal;

<sup>6</sup>CITAB, Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas, Departamento de Biologia, Universidade do Minho, Braga, Portugal

\*fbaltazar@ecsau.de.uminho.pt

O própolis é um produto natural resinoso, obtido pelas abelhas a partir das plantas, que possui diversas propriedades biológicas [1]. Nos últimos anos, vários estudos têm demonstrado a atividade antitumoral de diferentes amostras de propolis, no entanto, estudos com amostras Portuguesas são escassos [1-3]. Assim, este estudo teve como objectivo caraterizar a composição química e a atividade antitumoral de uma amostra de própolis Português, obtida no distrito de Guarda.

A caraterização química de um extrato etanólico do própolis do Pereiro (P10.EE) permitiu concluir que, em geral é semelhante a amostras de propolis denominadas “*poplar propolis type*”. Quanto à atividade antitumoral, observou-se que o P10.EE afecta a viabilidade celular de diferentes linhas tumorais, sendo que as linhas MDA- MB-231 (mama) e DU145 (próstata) são das mais sensíveis, e observou-se ainda que é pouco citotóxico contra linhas não tumorais e fibroblastos. Ao longo do tempo o P10.EE diminuiu também a proliferação e a migração em ambas as linhas celulares, acompanhadas de alterações no ciclo celular e aumento da morte. Quanto ao metabolismo, foi observado um aumento significativo do consumo de glucose e produção de lactato. Isto é explicado na linha celular MDA-MB-231 com o aumento da expressão do “*hypoxia inducible factor-1a*” (HIF-1a), piruvato desidrogenase quinase (PDK), transportador de glucose 1 (GLUT1), lactato desidrogenase (LDH) e anidrase carbónica IX (CAIX). Observou-se ainda que o P10.EE induziu uma diminuição da viabilidade e proliferação da linha endotelial HBMEC e diminui a neo-vascularização natural que ocorre na “*chicken chorioallantoic membrane*” (CAM). Em conclusão, apesar do aumento do metabolismo glicolítico, o P10.EE parece ser um bom candidato para o desenvolvimento de agentes anticancerígenos, visto que diminui características importantes que determinam a tumorigénese, como sejam a proliferação celular, migração, angiogénese, assim como aumenta a morte celular.

### Referências:

- [1] J.M. Sforcin, V. Bankova, *Journal of Ethnopharmacology*, **133**, 253-260 (2011).
- [2] I. Valença, F. Morais-Santos, V. Miranda-Gonçalves, A.M. Ferreira, C. Almeida- Aguiar, F. Baltazar, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **13**, 184 (2013).
- [3] S.I. Falcão, N. Vale, P. Gomes, M.R.M. Domingues, C. Freire, S.M. Cardoso, M. Vilas-Boas, *Phytochemical Analysis*, **24**, 309-18 (2012).

## Método de confirmação para análise de resíduos antibióticos em mel

Luísa Paulo<sup>1</sup>, Paulo Antunes<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>CATAA - Centro de Apoio Tecnológico Agro-Alimentar de Castelo Branco

\*pantunes@cataa.pt

Os antibióticos usualmente veiculados na apicultura pertencem ao grupo das tetraciclinas e sulfonamidas. Estes antibióticos criam resíduos no mel, o que poderá impossibilitar a sua comercialização devido à sua rejeição pelo comprador. A problemática dos antibióticos, em questão de saúde pública, deve-se à sua estabilidade por longos períodos de tempo no mel com possíveis reações alérgicas em indivíduos susceptíveis.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma metodologia analítica que permita quantificar os resíduos de antibióticos em méis através LC-MS/MS. Segundo a Decisão da Comissão Europeia 2002/657/CE [1], os métodos de espectrometria de massa são adequados para serem adotados como métodos de confirmação após separação cromatográfica dos compostos. A metodologia foi validada para tetraciclinas e sulfonamidas garantido limites de quantificação de 4 µg.kg<sup>-1</sup>, inferiores ao MLR (*Maximum Residue Limits*) estipulado para alimentos de origem animal de 100 µg.kg<sup>-1</sup> para sulfonamidas e 200 µg.kg<sup>-1</sup> para tetraciclinas [2]. Foram validados os seguintes parâmetros: seletividade/ especificidade, linearidade, limites de quantificação, fidelidade, e veracidade dos resultados de acordo com os critérios da FAO [3], e SANCO [4].

As amostras de mel são preparadas através de extração em fase sólida (SPE), onde são eliminados os açúcares e diversos outros compostos presentes no mel. O extrato purificado é concentrado. Os compostos são separados através de HPLC (Agilent 1200), e identificado e quantificados num espectrofotómetro de massas triploquadrupolo (Agilent 6400) em modo *dynamic MRM* (*Multiple Reaction Monitoring*).

Este método foi aplicado para controlo de qualidade em amostras de mel de vários produtores da Beira-Baixa sendo que nenhuma das amostras testadas apresentou vestígios de resíduos de antibióticos.

### Referências:

- [1] JOCE, L221/8, 17/08/2002, DECISÃO DA COMISSÃO de 12 de Agosto de 2002 que dá execução ao disposto na Directiva 96/23/CE do Conselho relativamente ao desempenho de métodos analíticos e à interpretação de resultados (2002/657/CE).
- [2] Codex Alimentarius Commission. Maximum Residue Limits for Veterinary Drugs in Foods. Updated as at the 32nd Session of the Codex Alimentarius Commission (July 2009).
- [3] FAO, Validation of Analytical Methods for Food Control, A Report of a Joint FAO/IAEA Expert Consultation 2-4 December 1997, Vienna, Austria (1997).
- [4] SANCO/12495/2011, Method Validation And Quality Control Procedures For Pesticide Residues Analysis In Food And Feed, European Commission Health & Consumer Protection Directorate-General (2011).

## Avaliação de bioactividades de uma amostra de própolis de origem portuguesa

Ana Sofia P. Freitas<sup>1,2\*</sup>, Cristina B. S. Pintado<sup>2</sup>, Paulo Antunes<sup>3</sup>, Ana Cunha<sup>1,4</sup>, Cristina Almeida Aguiar<sup>1,4</sup>, Rui Oliveira<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biologia, Escola de Ciências, Universidade do Minho

<sup>2</sup>Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Castelo Branco

<sup>3</sup>CATAA - Centro de Apoio Tecnológico Agro-Alimentar, Castelo Branco

<sup>4</sup>CITAB - Centro de Investigação e de Tecnologias Agro-Ambientais e Biológicas, Pólo da Universidade do Minho

\*pg23879@alunos.uminho.pt

O própolis é uma mistura complexa formada por material resinoso e balsâmico, colhido pelas abelhas dos ramos, flores, pólen, brotos e exsudados de árvores; à qual as abelhas adicionam secreções salivares já na colmeia. As abelhas utilizam o própolis na defesa contra os invasores e na imobilização das suas carcaças, protegendo a colmeia das pragas resultantes da putrefacção. A composição química do própolis varia geograficamente: com a flora disponível, com o tempo de colheita e a espécie das abelhas. Diferentes grupos de compostos podem ser encontrados nos extractos de própolis, como os polifenóis, terpenóides, esteróides e aminoácidos. Estes compostos têm sido associados com diversas actividades biológicas: antimicrobiana, antioxidante e quelante de radicais livres; anti-genotóxica e genotóxica; e anti-mutagénica [1].

O objectivo deste trabalho enquadra-se num projecto de análise e estudo do própolis português, particularmente no que diz respeito à sua caracterização química e à avaliação de actividades biológicas de modo a valorizar este produto, visando a possibilidade da sua utilização/exploração em aplicações médicas, cosméticas e nutraceuticas. O própolis seleccionado para este trabalho foi colhido num apiário no Gerês, em 2012, e foi utilizado na preparação de um extracto etanólico (G12.EE) para ser testado em diferentes ensaios, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* como modelo biológico de células eucarióticas.

O ensaio cometa foi realizado para analisar o efeito genotóxico e os resultados demonstraram que esta amostra não apresenta um efeito genotóxico significativo. Células incubadas com G12.EE e  $H_2O_2$  1 mM exibiram maior viabilidade do que células incubadas apenas com  $H_2O_2$  1 mM, sugerindo que o extracto protege as células contra stresse oxidativo. A mesma actividade antioxidante foi também evidenciada por citometria de fluxo uma vez que a oxidação do fluorocromo intracelular diclorofluoresceína diacetato foi menor em células incubadas com  $H_2O_2$  (1 mM) na presença do extracto de própolis em comparação com células incubadas apenas com  $H_2O_2$ . A análise de células tratadas com o extracto na presença do fluorocromo rodamina 123 mostrou que o G12.EE tem influência sobre o potencial da membrana mitocondrial ao diminuir a fluorescência emitida.

A amostra de própolis foi também avaliada quimicamente, por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC-MS), para caracterizar o seu perfil em compostos fenólicos e permitir a sua comparação com amostras de outras origens. O perfil químico de G12.EE revelou-se semelhante a outros perfis químicos de amostras de própolis europeu, em que os principais compostos encontrados foram o ácido p-cumárico, a pinocembrina, o ácido cafeico, a quercetina, a pinobanksina, a crisina e o ácido ferúlico, entre muitos outros, que poderão estar relacionados com as suas actividades biológicas.

### Referências:

- [1] H. Fokt, A. Pereira, A.M. Ferreira, A. Cunha, C. Aguiar, How Do Bees Prevent Hive Infections? The Antimicrobial Properties of Propolis, 481-493 (2010).



## Análise dos mecanismos de atividade biológica do própolis do Pereiro

Rita A. Marques<sup>1\*</sup>, Fátima Baltazar<sup>2</sup>, Ana Cunha<sup>1,3</sup>, Rui Oliveira<sup>1,3</sup>, Cristina Almeida Aguiar<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biologia, Escola de Ciências, Universidade do Minho

<sup>2</sup>ICVS - Instituto de Investigação em Ciências da Vida e Saúde, Universidade do Minho

<sup>3</sup>CITAB - Centro de Investigação e de Tecnologias Agro-Ambientais e Biológicas, Pólo da Universidade do Minho

\*pg23872@alunos.uminho.pt

O própolis é uma mistura complexa resinosa e balsâmica produzida pelas abelhas melíferas nas suas colmeias, particularmente pela *Apis mellifera* L.. Esta mistura possui uma vasta gama de propriedades biológicas com aplicações terapêuticas, entre as quais se destacam as propriedades antibacteriana e antifúngica. Os espetros de atividade antimicrobiana são variáveis com a localização geográfica da colmeia, com a flora local e com o clima. Estas variações conduzem à alteração dos rácios dos compostos presentes nos extratos traduzindo-se sobretudo em diferenças nas concentrações dos constituintes das amostras. Estas atividades estão associadas à presença de elevadas concentrações de compostos como flavonóides, ácidos fenólicos e aldeídos fenólicos.

Perspetivando a utilização de própolis para diversas aplicações futuras, o objetivo deste trabalho consistiu na avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de um extrato etanólico de uma amostra de própolis português, recolhida na Beira Alta (Pereiro) (P.10.EE). Simultaneamente procurou-se contribuir para a elucidação do seu(s) alvo(s) celular(es) e modo de ação. Na determinação da atividade antimicrobiana foram testados 36 microrganismos: 18 leveduras e 18 bactérias, tendo sido selecionada a levedura *Saccharomyces cerevisiae* como modelo biológico para os restantes estudos efetuados.

O extrato de própolis testado possui atividade antimicrobiana, sendo que aparentemente a atividade antifúngica a mais relevante. As leveduras do género *Candida* e as bactérias Gram-positivas mostraram, de um modo geral, sensibilidade ao extrato, tornando-o interessante para estudos futuros, no sentido de se isolar e caracterizar os compostos bioativos presentes nesta amostra. O P.10.EE revelou, ainda, afetar o potencial da mitocôndria. Mutantes de levedura afetados na morte celular programada e na resposta a stresse oxidativo são mais resistentes à sua ação tóxica. Estes dados sugerem que o modo de ação do própolis estudado poderá envolver uma ação direta sobre a mitocôndria, sendo consistente com a indução de um mecanismo de morte celular programada por apoptose [1,2].

### Referências:

- [1] P.A. Castro, M. Savoldi, D. Bonatto, M.H. Barros, M.H.S. Goldman, A.A. Berretta, G.H. Goldman, *American Society for Microbiology*, **10**, 398-411 (2011).
- [2] P.A. Castro, M. Savoldi, D. Bonatto, I. Malavazi, M.H.S. Goldman, A.A. Berretta, G.H. Goldman, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **12**, 194 (2012).

## Preparação de extratos de própolis dos Açores e avaliação das suas atividades antimicrobiana e antioxidante

**Tiago Lourenço<sup>1\*</sup>, Ana Margarida Ferreira<sup>2</sup>, Fátima Bento<sup>3</sup>, Dulce Geraldo<sup>3</sup>, Rui Oliveira<sup>1,4</sup>, Cristina Almeida Aguiar<sup>1,4</sup> e Ana Cunha<sup>1,4</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Biologia, Universidade do Minho

<sup>2</sup> Departamento de Química, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

<sup>3</sup> Centro de Química, Departamento do Química, Universidade do Minho

<sup>4</sup>CITAB - Centro de Investigação e de Tecnologias Agro-Ambientais e Biológicas, Pólo da Universidade do Minho

\*lourencotiago.92@gmail.com

Própolis é uma substância resinosa natural produzida pelas abelhas a partir de material de origem vegetal recolhido na flora circundante, sendo utilizado posteriormente na construção e reparação das suas colmeias [1]. Este produto apresenta uma composição química muito complexa e também muito diversa, bem como diversas atividades biológicas de interesse [2,3]. No presente trabalho estudaram-se cinco amostras de própolis recolhidas em 2010, na ilha Terceira (Açores, Portugal) com o objetivo de avaliar a sua capacidade antioxidante e as suas propriedades antimicrobianas. Para o efeito prepararam-se extratos etanólicos das amostras em estudo. O potencial antioxidante foi avaliado através de uma técnica eletroquímica, a voltametria. A atividade antimicrobiana foi estimada pelo método de incorporação dos extratos em placas com meio de cultura apropriado, utilizando como indicadores de suscetibilidade um painel de leveduras e bactérias de interesse em diferentes áreas.

Em relação à atividade antimicrobiana, os extratos foram mais ativos contra leveduras do que contra bactérias, e genericamente mais ativos contra as bactérias Gram-negativas que contra as Gram-positivas. No entanto, os extratos mais ativos contra leveduras não foram os mais eficazes contra bactérias, sugerindo modos de ação distintos sobre procariotas e eucariotas. Os resultados sugerem ainda uma relação entre algumas características macroscópicas das amostras, como por exemplo a cor, o aroma e a dureza, e a sua atividade antifúngica, o que poderá constituir um importante marcador.

Quanto ao potencial antioxidante, verificou-se existirem também diferenças entre os cinco extratos estudados, apresentando o extrato 4 maior atividade antioxidante, enquanto que os extratos 1 e 3 apresentam capacidade antioxidante semelhante. A inexistência de uma correlação entre a capacidade antioxidante e os espetros de atividade antimicrobiana revela que os compostos responsáveis por estas bioatividades sejam distintos.

Em conclusão, apesar das amostras serem provenientes de uma região relativamente circunscrita, existem diferenças significativas quanto à composição e bioatividades analisadas.

### Referências:

- [1] Z. Bulman, P. Le, A.O. Hudson, M. Savka, *Journal of Ethnopharmacology*, **138**, 788-97 (2011).
- [2] S. Silici, N.A. Koç, D. Ayangil, S. Çankaya, *J. Pharmacol Sci*, **99**, 39-44 (2005).
- [3] H. Fokt, A. Pereira, A. M. Ferreira, A. Cunha, C. Aguiar, *Formatex Research Center*, **1**, 481-493 (2010).

## Análise química de mel para garantir conformidade de produto

**Mafalda Resende<sup>1</sup>, Luísa Paulo<sup>1</sup>, André Nunes<sup>1</sup>, Paulo Antunes<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>CATAA - Centro de Apoio Tecnológico Agro-Alimentar de Castelo Branco

\*pantunes@cataa.pt

A comercialização de mel em Portugal é regulamentada pelo Decreto-Lei n.º 214/2003 de 18 de Setembro, que estabelece as definições, a classificação e as características do mel. Quando destinado ao consumo humano o mel deve obedecer a critérios de composição química nos parâmetros de teor de açúcares (frutose+glicose e sacarose), teor de água, teor de matérias insolúveis na água, condutividade elétrica, ácidos livres, índice diastásico e hidroximetilfurfural (HMF).

Para garantir a qualidade das análises, e integrado no processo de acreditação de acordo com a norma ISO 17025:2005, desde 2012 que os laboratórios da CATAA participam em ensaios interlaboratoriais que incluem estes parâmetros. Neste Programa Interlaboratorial participam 45 laboratórios de 16 países.

Tabela 1: Valores médios de z-score obtidos nos N ensaios realizados.

Parâmetro		N	z-score
Açúcares	Frutose	5	-0,46
	Glicose	5	-0,32
	Sacarose	5	1,50
	Maltose	5	-0,60
	Turanose	5	0,92
	Melezitose	5	*
	Trealose	5	*
Teor de água		8	-0,93
Condutividade		8	0,43
pH		8	-1,50
Acidez livre		8	0,20
Índice diastásico		8	1,80
HMF		8	-0,67

\* Valores abaixo do limite de quantificação, ensaios conforme.

É fundamental a participação em Programas de ensaio interlaboratoriais para garantir a fiabilidade dos resultados e que estes sejam comparáveis com outros laboratórios. Verificou-se que a totalidade dos resultados obtidos cumpre os critérios de aceitação dos resultados obtidos ( $z\text{-score} \leq 2,0$ ).

Estes resultados são fundamentais para assegurar a qualidade dos resultados do laboratório dentro do Sistema de Gestão da Qualidade ISO 17025, assim como alcançar a confiança junto dos clientes nacionais ou internacionais.

### Referências:

[1] Decreto-Lei n.º 214/2003 de 18 de Setembro, DIÁRIO DA REPÚBLICA – I SÉRIE-A N.º 216 – 18 de Setembro de 2003

## Caracterização de água-mel: análise fenólica, volátil, mineral e actividade biológica

**M. Graça Miguel<sup>1</sup>, Aazza Smail<sup>1</sup>, M. Dulce Antunes<sup>1</sup>, M. Leonor Faleiro<sup>2</sup>, Joana Duarte<sup>2</sup>, Ana R. Sivério<sup>2</sup>, Carina Silva<sup>2</sup>, Luís G. Pedro<sup>3</sup>, José G Barroso<sup>3</sup>, A. Cristina Figueiredo<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologia, IBB, Centro de Biotecnologia Vegetal, Campus de Gambelas 8005-139 Faro, Portugal Universidade do Algarve

<sup>2</sup>IBB-Centro de Biomedicina Molecular e Estrutural, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Edif. 8, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal

<sup>3</sup>Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências de Lisboa, Departamento de Biologia Vegetal, IBB, Centro de Biotecnologia Vegetal, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal

\*mgmiguel@ualg.pt

A água-mel é um sub-produto da actividade apícola, muito apreciado particularmente no Sul de Portugal (Alentejo e Algarve). A produção da água-mel inicia-se com a lavagem, com água quente, das ceras dos opérculos contendo ainda mel, própolis e pólen. Esta água é em seguida sujeita a um cozimento prolongado, até formar um xarope líquido, de cor castanha-dourado-rubi, e com uma consistência de ponto pérola. A água-mel é usada em Portugal, não só em medicina popular, para melhorar problemas respiratórios, mas também na gastronomia local, para espalhar no pão, para tempero de saladas, como acompanhamento de queijo fresco, como adoçante, e na preparação do típico bolo de água mel.

Com vista a valorizar a água-mel, o projecto “Caracterização Qualitativa da Água-mel para a sua Valorização a Nível Nacional” teve como objectivo contribuir para uma primeira caracterização da a) componente fenólica, volátil, mineral deste produto, b) avaliar as suas actividades antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e anti-viral, e c) compreender a influência do processo de preparação e tipo de mel utilizado nas características do produto final.

Os resultados mostraram que as amostras de água-mel apresentavam variabilidade química em todos os parâmetros avaliados, dependendo dos produtores e até, nalguns casos, dos anos de produção para o mesmo apicultor [1-3]. As amostras de água-mel mostraram actividade antioxidante, anti-inflamatória, anti- microbiana e anti-viral. Contudo, e tal como para a composição química, também estas actividades variaram de amostra para amostra. Os resultados obtidos apontam para que a água-mel possa ser utilizada como fonte de anti-oxidantes e no controlo de bactérias com grande impacto no âmbito das doenças infecciosas. O potencial de inibição de aderência de alguns microrganismos foi também avaliado e os resultados mostraram a potencialidade da água-mel como inibidor da formação de biofilme. O potencial de virulência de estirpes resistentes aos antibióticos foi diminuído pela acção da água-mel.

### Agradecimentos:

Ao Ministério da Agricultura, Mar, Ambiente e Ordenamento do Território (Portugal) através do Programa Apícola Nacional 2011-2013, Medida 6A, e à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) pelo apoio no âmbito do projecto Pest-OE/EQB/LA0023/2011.

### Referências:

- [1] M.G. Miguel, M.D. Antunes, S. Aazza, J. Duarte, L. Faleiro, *Italian Journal of Food Science*, **25**, 275 (2013).
- [2] M.G. Miguel, L. Faleiro, M.D. Antunes, S. Aazza, J. Duarte, A.R. Silvério, *Food and Chemical Toxicology*, **56**, 136 (2013).
- [3] M.G. Miguel, A. Smail, M.D. Antunes, M.L. Faleiro, L.G. Pedro, J.G Barroso, A.C. Figueiredo, XXXIII International Apicultural Congress (Apimondia), p. 326-327 (2013).

## Própolis de Marrocos

**Smail Aazza<sup>1,2</sup>, Vassya S. Bankova<sup>3</sup>, Milena P. Popova<sup>3</sup>, Maria G. Miguel<sup>1\*</sup>, Maria D. Antunes<sup>1</sup>, Badiaâ Lyoussi<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Faculdade de Ciências e Tecnologia, IBB-CBV, Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal

<sup>2</sup>Laboratory of Physiology, Pharmacology and Environmental Health, Faculty of Sciences Dhar El Mehraz, BP 1796 Atlas, University Sidi Mohamed Ben Abdallah, Fez 30 000, Morocco

<sup>3</sup>Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria

\*mgmiguel@ualg.pt

A partir dos rebentos de diversas árvores (freixos, castanheiros, salgueiros) e das cascas de algumas Pináceas, as abelhas recolhem uma resina que aglomeram em pequenas bolas, transportando-as para a colmeia que, juntamente com cera, formam o própolis. Este é constituído por resinas e bálsamos, óleos essenciais, cera, pólen e outros compostos, nomeadamente fenóis. A composição relativa destes constituintes de própolis depende de vários factores: região de produção, tipo de vegetação e até da subespécie de *Apis mellifera* [1].

A abelha utiliza o própolis para tapar fissuras e interstícios ou para mumificar pequenos seres vivos que se introduzam na colmeia, por revestimento [2]. O própolis tem sido usado em medicina popular, na cosmética e na indústria alimentar devido principalmente à presença de compostos fenólicos, particularmente flavonóides. Estes compostos apresentam actividade antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória [3]. Contudo, outros compostos podem predominar no própolis e que apresentam igualmente propriedades biológicas: diterpenos, benzofenonas preniladas, entre outros [3].

A composição química e a actividade anti-inflamatória e anti-diabética in vitro de onze amostras de própolis recolhidas em várias zonas de Marrocos foram avaliadas neste trabalho. Grande diversidade química foi detectada nas amostras. Enquanto nalgumas predominavam flavonóides e flavonóides/ésteres fenólicos, noutras eram os diterpenos que dominavam. Noutros casos, eram os açúcares os constituintes mais importantes presentes nas amostras de própolis. Esta variabilidade química foi responsável pela diversidade de resultados encontrados na actividade anti-inflamatória e na capacidade para inibir a  $\alpha$ -amilase e a  $\alpha$ -glucosidade. As amostras onde dominavam flavonóides apresentavam a melhor actividade anti-inflamatória bem como a melhor capacidade para inibir a  $\alpha$ -oxidase. A inibição mais elevada da  $\alpha$ -amilase foi encontrada nas amostras onde predominavam os diterpenos seguida da amostra rica em flavonóides/ésteres fenólicos.

### Agradecimentos:

Programa de Aprendizagem ao Longo da Vida - Acção Erasmus (bolsa de mobilidade de pessoal docente).

### Referências:

- [1] Anónimo, Manual de Produção de Pólen e Própolis, Federação Nacional dos Apicultores de Portugal, Portugal, Lisboa (2010).
- [2] A.P. Cunha, Farmacognosia e Fitoquímica, Fundação Calouste Gulbenkian, Portugal, Lisboa (2005).
- [3] M.G. Miguel, M.D. Antunes, *Journal of Pharmacy and BioAllied Sciences*, **3**, 479 (2011).

## Quantificação de flavonóides em mel

M. Celeste C. Serra<sup>1\*</sup>, Nair Alua<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Estudos de Engenharia Química, Instituto Superior de Engenharia de Lisboa  
Rua Conselheiro Emídio Navarro, 1, 1959-007 Lisboa

\*mcserra@deq.isel.ipl.pt

A acção terapêutica do mel tem sido objecto de diversos estudos nos quais se podem incluir a avaliação da sua actividade antioxidante [1].

Os compostos com propriedades antioxidantes desempenham um papel importante na saúde devido à sua acção de inibição sobre as espécies reactivas de oxigénio e ao efeito de protecção contra doenças degenerativas associadas ao envelhecimento.

Polifenóis, enzimas, aminoácidos e vitaminas são exemplos de compostos com estas propriedades e devido a muitos deles estarem presentes no mel, daí a actividade antioxidante evidenciada por este produto natural [2]. A avaliação da capacidade antioxidante do mel pode, assim, contribuir para a valorização do produto junto do consumidor uma vez que seu uso tradicional como adoçante pode tornar-se uma alternativa mais saudável.

É conhecido que compostos fenólicos, como os flavonóides, existem no mel devido ao pólen, à propólis e ao néctar e são importantes ferramentas na determinação da origem floral e geográfica do mel [3].

Dando continuidade aos estudos sobre a actividade antioxidante do mel produzido em Portugal, o presente trabalho refere a quantificação de flavonóides em méis da região da Lousã (maioritariamente constituídos por castanheiro e urze) e de eucalipto, trevo, incenso, laranjeira e urze.

O método escolhido para o doseamento dos flavonóides teve por base o descrito por Dowd [4] ou seja, fundamentou-se na detecção, a 415 nm, de um complexo de cor amarela formado entre flavonóides e cloreto de alumínio. A quantificação foi realizada a partir de curvas de calibração com padrões de quercetina de concentração entre 0,5 e 50 mg/L.

Os resultados evidenciaram teores em flavonóides entre 4,5 e 8,3 mg quercetina/100g de mel, com os méis de urze, incenso e da região da Lousã a apresentarem os teores mais elevados.

Ao comparar os teores de flavonóides obtidos neste trabalho com valores da literatura verificou-se que os resultados estão dentro da gama de valores referidos por outros autores (0,17 - 8,35 mg quercetina/100 de mel) [2].

### Referências:

- [1] N. Gheldof, X. Wang, N. Engeseth, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 5870 (2002).
- [2] A. Meda, C. Lamien, M. Romito, J. Millogo, O. Nacoulma, *Food Chemistry*, **91**, 571 (2005).
- [3] I. Martos, F. Ferreres, F.A. Tomás-Barberán, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 1498 (2000).
- [4] L.E. Dowd, *Analytical Chemistry*, **31**, 7, 1184 (1959).



## Análisis de parámetros importantes para el control de calidad en mieles de Turquía

**Ana Pascual-Maté<sup>1</sup>, Amalia Herrón<sup>1</sup>, Elena G. Rodríguez-Morales<sup>1</sup>, Sandra M. Osés<sup>1</sup>, Miguel A. Fernández-Muiño<sup>1</sup> y María Teresa Sancho<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Área de Nutrición y Bromatología, Departamento de Biotecnología y Ciencia de los Alimentos, Facultad de Ciencias, Universidad de Burgos, España.

\*apmate@ubu.es

En 21 mieles turcas cosechadas en los años 2012-2013 se han analizado el contenido en humedad, la actividad de agua, la conductividad eléctrica, el pH, los tipos de acidez y el índice de formol. Sólo los valores de humedad, conductividad eléctrica y acidez libre vienen regulados por la legislación europea [1].

El contenido de agua osciló entre 14,0% y 18,7%, cumpliendo todas las muestras con el límite legal establecido por no superar el 20% de humedad. En cuanto a la actividad de agua ( $a_w$ ), ésta se encontró entre 0,55 y 0,66. Aunque este valor no se encuentra legislado, se considera que los valores normales varían entre 0,55 y 0,75, siendo las mieles con un valor de  $a_w < 0,60$  microbiológicamente estables [2].

En relación con la conductividad eléctrica, las muestras presentaron un valor máximo de 1,9 mS/cm y un mínimo de 0,1 mS/cm. Estos resultados coincidieron en un 95,2% con los obtenidos en el análisis botánico de las mieles, ya que todas las muestras cuyos valores superaron los 0,8 mS/cm fueron de mielada o de castaño, a excepción de una muestra de castaño en la que el valor se encontró muy próximo pero por debajo a 0,8 mS/cm. En la muestra de miel donde se observó el valor mínimo de conductividad eléctrica, el estudio melisopalínológico del sedimento mostró la presencia de almidones poliédricos, indicio de adulteración.

En relación con el pH, los valores estuvieron comprendidos entre 3,6 y 5,6. Aunque el pH tampoco es un parámetro legislado, se considera que los valores normales varían entre 3,5 y 5,5 [2].

En relación con los distintos tipos de acidez, las muestras analizadas han presentado un valor máximo de 34,2 meq/kg y un valor mínimo de 11,4 meq/kg, encontrándose todas ellas por debajo del límite legal de 50 meq/kg establecido. Los valores de acidez láctica se encontraron entre 0 meq/kg y 9,5 meq/kg. La muestra adulterada fue la que presentó menor acidez libre y menor acidez total.

Por último en lo referente al índice de formol, los valores oscilaron entre 0,2 y 1,1 meq/100 g. Tres de las muestras se encontraron fuera de los valores considerados como normales (0,45-1,55 meq/100 g) [3].

Finalmente, se encontraron relaciones estadísticamente significativas importantes ( $p < 0,05$ ;  $r > 0,7$ ) entre la acidez total y libre, la acidez total y láctica, la acidez láctica y el pH, y la conductividad eléctrica y el pH.

### Referencias:

- [1] Diario Oficial de las Comunidades Europeas DOCE, *Directiva del Consejo de 20 de diciembre de 2001 relativa a la miel 2001/110/EC*, Bélgica, Bruselas (2002).
- [2] J.W.Jr. White, Honey. In: *Advances in Food Research*, Academic Press Inc., New York, 24, 287-374 (1978).
- [3] Manuel Suisse des Denrées alimentaires, *Office Central Fédéral des Imprimés et du Matériel*, 23, Berna, Suiza (1974).

## Análisis de parámetros de deterioro y envejecimiento en mieles de Turquía

**A. Herrón<sup>1</sup>, M.A. Fernández-Muiño<sup>1</sup>, A. Pascual-Maté<sup>1</sup>, A. Kence<sup>2</sup>, M.T. Sancho<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Área de Nutrición y Bromatología, Departamento de Biotecnología y Ciencia de los Alimentos, Facultad de Ciencias, Universidad de Burgos, España.

<sup>2</sup>Middle East Technical University, Department of Biological Sciences, Ankara, Turquía.

\*mtsanco@ubu.es

La legislación europea recoge el contenido en hidroximetilfurfural (HMF) y la actividad diastásica como los parámetros indicadores de la frescura de las mieles. Sin embargo, la  $\alpha$ -glucosidasa es una enzima más sensible frente al envejecimiento o calentamiento, por lo que podría ser empleada como mejor parámetro indicador de deterioro de mieles.

Turquía es un país de gran importancia en lo referente a producción y exportación de miel a distintos estados miembros de la Unión Europea. En 21 mieles turcas de la cosecha correspondiente a los años 2012-2013 se han analizado el contenido en hidroximetilfurfural (mg/kg), la actividad diastásica (escala de Schade) y la actividad de la  $\alpha$ -glucosidasa ( $\mu$ moles de 4-nitrofenil- $\alpha$ -D-glucopiranosido/kg miel/min). Este estudio forma parte de un trabajo colaborativo entre las Universidades Middle East Technical University de Ankara y la Universidad de Burgos para evaluar la calidad de mieles turcas.

En relación con el contenido en hidroximetilfurfural, se obtuvo un valor promedio de 14 mg/kg, con un valor mínimo no detectable y un valor máximo de 70,7 mg/kg. De las 21 muestras analizadas, tres no cumplieron el límite legal por superar los 40 mg/kg.

En relación con la actividad de las diastasas, se obtuvo un valor promedio de 12,2 en la escala de Schade, con un mínimo muy próximo a cero y un máximo de 34,1 en la escala de Schade. Tres muestras de las 21 analizadas no se encontraron dentro de los límites legales, al poseer dos de ellas valores de índice de diastasas inferiores a 3 en la escala de Schade y otra un valor de índice de diastasas entre 3 y 8 en la escala de Schade, con un contenido en hidroximetilfurfural superior a 15 mg/kg. En una de esas mieles se observó un valor de índice de diastasas próximo a cero en la escala de Schade, lo que es un resultado completamente anormal. Un estudio del sedimento de dicha miel observado al microscopio puso de manifiesto la presencia de numerosos almidones poliédricos lo que indicó una clara adulteración, probablemente con jarabe de maíz.

Por último en lo referente a actividad de la  $\alpha$ -glucosidasa, se obtuvo un promedio de 162,7  $\mu$ moles de 4-nitrofenil- $\alpha$ -D-glucopiranosido/kg miel/min, con unos valores comprendidos entre un mínimo de 0,5  $\mu$ moles de 4-nitrofenil- $\alpha$ -D-glucopiranosido/kg miel/min y un máximo de 383,5  $\mu$ moles de 4-nitrofenil- $\alpha$ -D-glucopiranosido/kg miel/min. El valor promedio es algo superior al encontrado previamente en mieles de Galicia (España), en las que se obtuvo un promedio de 128,3  $\mu$ moles 4-nitrofenil- $\alpha$ -D-glucopiranosido/g miel/min. Como era de esperar, el valor mínimo en nuestro trabajo lo presentó la muestra adulterada.

## Influência do processo de desidratação sobre a atividade antimicrobiana do pólen apícola desidratado

Adriane A. M. de Melo<sup>1\*</sup>, Georgina Tolentino<sup>2</sup>, Maria Leticia M. F. Estevinho<sup>2</sup>, Ligia B. de Almeida-Muradian<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Análise de Alimentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

<sup>2</sup>CIMO, Centro de Investigação de Montanha, Instituto Politécnico de Bragança, Portugal

\*adriane.melo@usp.br

O objetivo deste estudo foi investigar a influência do processo de conservação na atividade antimicrobiana de amostras de pólen apícola do Brasil contra microorganismos isolados de fluidos biológicos e estirpes de referência.

Amostras de pólen apícola foram coletadas durante os meses de abril/2012 e setembro/2012 em um apiário localizado no Estado de São Paulo, Brasil. Parte das amostras foi submetida a desidratação por aquecimento em estufa a 42°C e parte a desidratação por liofilização. A atividade antimicrobiana foi determinada pelo método de microdiluição em placa [1], na Escola Superior Agrária de Bragança. Como material biológico foram utilizadas bactérias Gram-positivas (*Streptococcus pyogenes* ATCC; *Streptococcus pyogenes* ESA12; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538<sup>TM</sup>; *Staphylococcus aureus* ESA54), bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli* ATCC 25922<sup>TM</sup>; *Escherichia coli* ESA72; *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883<sup>TM</sup>; *Klebsiella* spp) e leveduras (*Candida albicans* ATCC 10231<sup>TM</sup> e *Candida albicans* ESA109). Os resultados foram expressos em concentração mínima inibitória (CIM; p/v), que é a menor concentração de extrato de pólen apícola capaz de inibir o crescimento microbiano indicado por coloração com cloreto de trifênil tetrazolium (TTC).

Todos os extratos apresentaram atividade antimicrobiana. A CIM para bactérias Gram-positivas variou entre 1,4 e 5,3%, enquanto que, para as bactérias Gram-negativas os valores obtidos oscilaram entre 2,5 e 7,0% e para as leveduras entre 16,7 e 25,8%. As amostras liofilizadas exerceram um efeito mais acentuado na inibição de crescimento de todos os microrganismos em estudo comparativamente com as amostras secas em estufa, sugerindo que o aquecimento pode ter alterado os compostos com propriedades antimicrobianas.

Grande parte dos produtores de pólen apícola utiliza a desidratação por aquecimento em suas unidades de processamento, no entanto, este estudo indica que a liofilização pode ser uma alternativa ao processo atual que resulte num produto de maior potencial biológico. O consumo de pólen apícola é impulsionado pela demanda por produtos naturais com propriedades terapêuticas, portanto, quanto maior o potencial biológico deste produto, maior será a sua procura.

### Agradecimentos:

À FAPESP por bolsa de estudos e auxílio em pesquisa.

### Referências:

[1] M. Morais, L. Moreira, X. Féas, M.L.M.F. Estevinho, Food and Chemical Toxicology, 5 (2011).

### Nota:

As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade dos autores e não necessariamente refletem a visão da FAPESP.

## Relevância da floresta portuguesa para as abelhas

*Joana Godinho<sup>1\*</sup>, Manuela Branco<sup>2</sup>, Paulo Godinho-Ferreira<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Unidade Estratégica de Investigação e serviços em Sistemas Agrários, Florestais e de Sanidade Vegetal, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Oeiras, Portugal

<sup>2</sup>Centro de Estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, Portugal

\*joana.godinho@iniav.pt

Os ecossistemas florestais mediterrânicos possuem uma flora única e diversificada, caracterizada por um sub-bosque dominado por plantas angiospérmicas polinizadas por insetos, principalmente visitadas pelas abelhas, nas suas atividades de recolção de néctar e pólen.

O declínio mundial presente em populações de abelhas domésticas (*Apis mellifera*) gera grandes preocupações sobre a mortalidade, sendo principalmente atribuída à intensificação agrícola, particularmente o uso de pesticidas. Neste contexto, as florestas mediterrânicas sendo mantidas livres da aplicação de biocidas, podem desempenhar um papel ecológico importante, fornecendo habitat protetor e fonte de alimento para as abelhas.

O valor económico da apicultura nas florestas mediterrânicas pode resultar tanto diretamente de produtos apícolas, tais como mel e pólen, como, indiretamente, assegurando a polinização eficaz dos ecossistemas florestais e agrícolas através de ações de polinização dirigida nas culturas, com colónias de abelhas desenvolvidas em ecossistemas florestais. Assim, a floresta deve ser avaliada como fornecedora do serviço de polinização, um importante serviço deste ecossistema.

Apresentam-se evidências sobre a importância dos ecossistemas florestais mediterrânicos como fontes valiosas de néctar e pólen. Comparam-se diferentes tipos de mel produzidos em ecossistemas florestais, no que respeita à sua origem floral, como evidência da diversidade de flora apícola associada aos ecossistemas florestais.

Resultados demonstram a necessidade de implementar estratégias de gestão das florestas focadas na governância da polinização, promovendo a conservação do habitat para abelhas em territórios livres de pesticidas.





## Índice de autores

### A

A. Cristina Figueiredo, 38, 92  
A. Herrón, 96  
A. Kence, 96  
A. Pascual-Maté, 95, 96  
A. Paula Pereira, 48, 53  
A. Sofia Lima, 38  
Aazza Smail, 92  
Abílio J.F.N. Sobral, 86  
Adélio A.M. Machado, 76, 77  
Adriane A. M. de Melo, 97  
Alberto Dias, 65  
Albino Bento, 78, 79  
Alexandre Bera, 52  
Alfredo Teixeira, 43  
Almudena Cepero, 37  
Amalia Herrón, 95  
Ana Amaro, 64  
Ana C.A. Veloso, 76, 77  
Ana Cristina Figueira, 50  
Ana Cunha, 88, 89, 90  
Ana M. Ferreira, 86, 90  
Ana Perkušić, 50  
Ana R. Sívério, 92  
Ana Sofia P. Freitas, 88  
André Nunes, 91  
Andreia Tomás, 44  
Ángela García, 40  
António M. Peres, 76, 77  
António Murilhas, 34  
Antonio Nanetti, 36

### B

Badiaâ Lyoussi, 93  
Benoit Siefert1, 39

### C

Carina Silva, 92  
Carla Iglesias, 40  
Carlos Alfredo Carvalho, 66  
Carlos M. Echazarreta, 42  
Celestino Santos-Buelga, 79  
Clarisse Ramalho, 50  
Cristina Almeida Aguiar, 86, 88, 89, 90  
Cristina B. S. Pintado, 88  
Cristina Freire, 51

### D

David Rodríguez de la Cruz, 49

Débora Amâncio, 28  
Diana Chito Trujillo, 47  
Didier Crauser, 38  
Diego Martínez, 35  
Diego P. Alonso, 80  
Digo Serafim, 72  
Dora Henriques, 55, 56, 57, 62, 63  
Dulce Geraldo, 90

### E

Edison A. Souza, 67, 70, 71  
Elena G. Rodríguez-Morales, 95  
Enrique G. Hernández, 42  
Estefanía Sánchez Reyes, 49

### F

Fátima Baltazar, 86, 89  
Fátima Bento, 90  
Fátima Peres, 40  
Fernanda S. Rita, 71

### G

Georgina Tolentino, 97

### H

Helena Ferreira, 63

### I

Irene Muñoz, 35, 37, 57  
Isabel C.F.R. Ferreira, 54, 78, 79

### J

J. Spencer Johnston, 56, 57, 62  
Javier Martínez, 40  
Javier Taboada, 40  
Joana Duarte, 92  
Joana Godinho, 98  
Joana M. Coelho, 52  
João C. Azevedo, 57  
John C. Patton, 57  
José G Barroso, 92  
José M. Castro, 82  
José M. Fresno, 82, 83  
José Rufino, 56, 57, 62  
José Sánchez Sánchez, 49  
Judit Rodriguez, 45



## Índice de autores

Julio Chávez-Galarza, 55, 56, 57, 62, 63

### L

Laura Jara, 35, 63  
Leticia Estevinho, 43, 46, 47, 48, 53, 66, 73, 76, 77, 82, 83, 84, 97  
Ligia B. Almeida-Muradian, 52, 97  
Lillian Barros, 79  
Luís M. Cunha, 46, 84  
Luís G. Dias, 46, 53, 73, 75, 76, 77, 84  
Luís G. Pedro, 92  
Luísa Paulo, 87, 91  
Luiz H. Simões, 70

### M

M. A. Fernández-Muiño, 96  
M. Alice Pinto, 37, 55, 56, 57, 62, 63  
M. Celeste C. Serra, 74, 94  
M. Dulce Antunes, 92, 93  
M. Graça Miguel, 92, 93  
M. José Valério, 34, 64  
M. Leonor Faleiro, 92  
M. Pilar de Sá-Otero, 45  
M. Eugenia Tornadizo, 82  
M.T. Sancho, 96  
Mafalda Resende, 85, 91  
Manuela Branco, 98  
Mara E.B.C. Sousa, 76, 77  
Márcio Carochio, 78, 79  
María Carmen Seijo, 72  
Maria G. Campos, 28  
Maria João R.P. Queiroz, 54  
María Shantal Rodríguez, 72  
María Teresa Sancho, 95  
Mariano Higes Pascual, 25  
Mariano Higes, 36, 37  
Marieta Carvalho, 47  
Mário Gomes, 75  
Melina S. Modanesi, 80  
Mélissa Lopes, 81  
Miguel A. Fernández-Muiño, 95  
Miguel Maia, 65  
Miguel Vilas-Boas, 38, 44, 51, 52, 54, 75, 81  
Milena P. Popova, 93  
Mônica M. Ito, 69

### N

Nabor Veiga, 80  
Nair Alua, 74, 94  
Nuno Vale, 52

### O

Ofélia Anjos, 26, 28, 40, 72, 85

### P

Patricia Combarros-Fuertes, 82, 83  
Patricia Morales, 78, 79  
Paula Cabo, 75  
Paulo Antunes, 85, 87, 88, 91  
Paulo E. M. Ribolla, 67, 80  
Paulo Fernandez, 26  
Paulo Godinho-Ferreira, 98  
Paulo Russo-Almeida, 34, 65  
Pilar De la Rúa, 29, 35, 37, 57, 63

### R

Rafaela Fonseca, 48  
Raphaele Massard, 39  
Raquel Martín-Hernandez, 36, 37  
Renata L. Lomele, 69  
Renato J. Sousa, 52  
Ricardo C. Calhelha, 54  
Ricardo de O. Orsi, 67, 68, 69, 70, 71, 80  
Ricardo Silva-Carvalho, 86  
Riccardo Cabbri, 36  
Rita A. Marques, 89  
Rodrigo Zaluski, 68  
Rosa M. Valencia-Barrera, 83  
Rubén A. Ortega, 46, 84  
Rui Oliveira, 88, 89, 90

### S

Samir M. Kadri, 67, 68, 80  
Samira Peixoto, 66  
Sância Pires, 34  
Sandra Armesto, 45  
Sandra M. Osés, 95  
Sandra Rodrigues, 43  
Sara Barbosa, 47  
Silvia Sánchez Durán, 49  
Smail Aazza, 93  
Soraia Falcão, 44, 51, 52, 54, 81  
Susana M. Cardoso, 86

### T

Tamara Gómez-Moracho, 36  
Teresa Cavaco, 50  
Teresa Dias, 48  
Teresa Rangel de Figueiredo, 65

## Índice de autores

Teresa Soeiro, 50  
Thaís S. Bovi, 71  
Tiago Lourenço, 90  
Tiago Mauricio Franco, 41

## X

Xesus Feás, 43

## Y

Yves Le Conte, 38

## V

Vanessa B. Paula, 53, 73  
Vassya S. Bankova, 93  
Vera Gonçalves, 50  
Vera Miranda-Gonçalves, 86  
Víctor H. Franco, 42  
Voicu Mariş, 50

---

III Congresso Ibérico de Apicultura

ISBN 978-972-745-165-4



---

Organização



**Centro de Investigação  
de Montanha**

